Über die Trennung ungesättigter Fettsäuren mit Hilfe ihrer Quecksilber-Addukte.

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Karl Morgenstern
aus Rausdorf/Thür.

Hamburg
1961

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548107_0047

Über die Trennung ungesättigter Fettsäuren mit Hilfe ihrer Quecksilber-Addukte.

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Karl Morgenstern
aus Rausdorf/Thür.

Hamburg
1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Genehmigt von der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Hamburg
auf Antrag von Professor Dr. Ernst Jantzen

Hamburg, den 8.2.1961

Professor Dr. E. Otremba
Dekan

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Juni 1959 bis Oktober 1960 in der Abteilung für Technische Chemie des Chemischen Staatsinstitutes der Universität Hamburg unter Leitung von Professor Dr. Ernst Jantzen durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Ernst Jantzen, danke ich herzlich für viele wertvolle Anregungen.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	7
Allgemeiner Teil	13
I) Die Methoxymerkurierung von ungesättigten Fettsäuremethylestern	13
a) Reaktionszeiten	13
b) Beschleunigung der Adduktbildung durch Borfluorid	17
c) Zur Frage der cis-trans-Isomerisierung durch Borfluorid	21
II) Abtrennung des Borfluorids von den Addukten	22
a) Durch Ionenaustauscher	22
b) Durch Waschen mit Wasser	24
III) Regeneration der Fettsäuremethylester aus den Addukten	26
IV) Chromatographische Trennung der Addukte	28
a) Fettsäuremethylester C_{10}	28
b) Fettsäuremethylester C_{12}	29
c) Fettsäuremethylester C_{14}	31
d) Fettsäuremethylester C_{16}	31
e) Fettsäuremethylester C_{18}	32
f) Fettsäuremethylester C_{20}	34
g) Fettsäuremethylester C_{22}	35
h) Das Verhalten der Mono-Addukte von Fettsäuremethylestern verschiedener Kettenlänge bei der chromatographischen Trennung	36
V) Trennung von Linol- und Linolensäuremethylester	39
a) Vorversuche	39
b) Versuche mit Testgemischen	43
c) Trennung von nativen Gemischen	47
1) Methylester der Leinoelfettsäure	47
2) Methylester der Hanfoelfettsäure	50
3) Methylester der Rüboelfettsäure	51

Seite

d) Trennung von Dienen und Trienen der Kettenlänge C_{16} 51

e) Das Verhalten von Di- und Triaddukten der Fettsäuremethylester bei der chromatographischen Trennung 52

Praktischer Teil 54

I) Zusammenfassung der Arbeitsvorschriften 54

a) Darstellung der Addukte 54

b) Trennung 56

c) Regenerierung der Ester 57

d) Regenerierung des Ionenaustauschers 57

II) Darstellung der C_{18}-Fettsäuremethylester des Hanfoels 58

III) Darstellung von Bortrifluoridätherat 59

Zusammenfassung 60

Literatur 62

E I N L E I T U N G

Über die Reaktion zwischen Quecksilber(II)-salzen und Olefinen berichteten erstmalig K. A. Hofmann und J. Sand (1,2,3) in den Jahren 1900 bis 1906. Es gelang ihnen, aus neutralen wässerigen Quecksilber(II)-chlorid-Lösungen und Aethylen thermisch empfindliche, durch Säuren rückspaltbare Verbindungen in kristalliner Form zu gewinnen, denen sie die Strukturformeln

$Cl \cdot Hg - CH_2 - CH_2 - OH$ $\quad ClHg-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-HgCl$

zuschrieben. Die Aetherbildung trat bei höherer Konzentration und langer Reaktionszeit mehr in Erscheinung. Hofmann stützte seine Ansicht, daß es sich um Strukturverbindungen handele, auf das chemische Verhalten der neuen Stoffe. Sie lieferten nämlich mit Halogenen das entsprechende Aethylenhalogenhydrin

$$\begin{matrix} CH_2HgCl \\ | \\ CH_2-OH \end{matrix} \quad + \; J_2 \longrightarrow \quad \begin{matrix} CH_2-J \\ | \\ CH_2-OH \end{matrix} \quad + \; HgClJ$$

Da aber aus den Quecksilberaddukten des Aethylens durch starke Säuren, z. B. Salzsäure, das Aethylen zurückgebildet wird, widersprach W. Manchot (4,5) der Hofmannschen Auffassung und erklärte, die Addukte seien nur lose Molekülverbindungen. In den folgenden Jahren erschien eine große Anzahl von Arbeiten (6-13), die, meist auf die chemische Verhaltensweise der Verbindungen gestützt, teils Hofmanns, teils Manchots Erklärung recht gaben.

Auf Grund von chemischen Umsetzungen allein war hier die sichere Entscheidung für eine der beiden Auffassungen schwierig, denn man konnte die Möglichkeit tiefer greifender Umwandlungen während der Reaktionen nie ganz ausschließen, auch fehlten wegen der ungewöhnlichen Art dieser Quecksilberaddukte Analogien zu nahe verwandten Verbindungen. In jüngerer Zeit wies F. Withmore (14) darauf hin, daß β-Chlorsiliciumäthane durch Hydrolyse unter Abspaltung von Äthylen zerfallen, z. B.

$$ClCH_2CH_2SiCl_3 \; + \; H_2O \longrightarrow CH_2=CH_2 \; + \; 4\,HCl \; + \; Si(OH)_4$$

ähnlich, wie nach der Hofmannschen Auffassung das Äthanolqueck-

silberchlorid durch Salzsäure gespalten wird:

$$HOCH_2CH_2HgCl + HCl \longrightarrow CH_2{=}CH_2 + H_2O + HgCl_2$$

Diese Analogie stützt zweifellos die Annahme einer Strukturverbindung für Quecksilberaddukte. Schließlich leiteten F. Cotton und J. Leto (15) aus Protonenresonanz-Spektren von Äthanolquecksilberchlorid und Methoxyäthanquecksilberacetat ab, daß diese Stoffe in Lösung in der von Hofmann angegebenen Form vorliegen. Der ein halbes Jahrhundert währende Streit über das Wesen der Quecksilberaddukte ist demnach wohl endgültig zugunsten der Hofmann-Sandschen Formulierung entschieden.

Die Reaktion zwischen Quecksilber(II)-salzen und Aethylenen ist nach E. Rochow (16) eine Gleichgewichtsreaktion, da die entstehende Säure auf die Addukte rückspaltend wirkt:

$$CH_2{=}CH_2 + HgX_2 + ROH \rightleftharpoons RO{-}CH_2{-}CH_2{-}HgX + HX$$

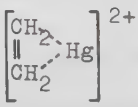
$$X = Cl,\ NO_3 \qquad\qquad R = H,\ CH_3,\ C_2H_5$$

Verwendet man die Quecksilbersalze schwacher Säuren (z. B. Quecksilber(II)-acetat), so tritt keine Rückspaltung ein. Die Reaktion läuft sogar in Eisessig ab, wenn auch viel langsamer als in Wasser oder in Methanol (17), und zwar unter Bildung eines Essigsäureesters:

$$CH_2{=}CH_2 + HgX_2 + CH_3COOH \longrightarrow CH_3CO_2{-}CH_2{-}CH_2{-}HgX + HX$$

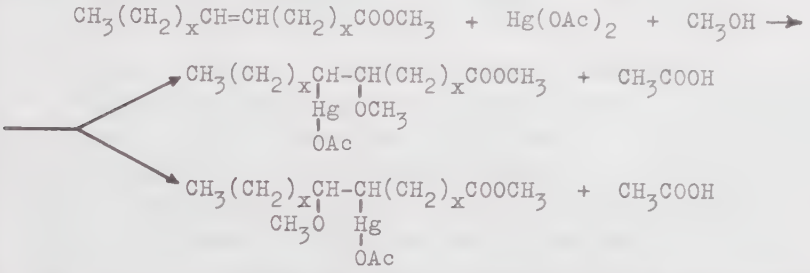
Beschleunigend wirken Salpetersäure (9), Sauerstoff, Peroxyde (18,19) und besonders Bortrifluorid (18,20). Die Umsetzung verläuft in Methanol wesentlich schneller als in Wasser oder Aethanol. Bei substituierten Aethylenen wird das Quecksilber an das Kohlenstoffatom gebunden, das die meisten Wasserstoffatome trägt. Die Anlagerung erfolgt also nach der Regel von Markownikoff.

Der Reaktionsmechanismus beginnt nach E. Rochow (16) mit der Bildung eines intermediären Koordinationskomplexes, eines "Merkurium-Ions".



An diesen Komplex lagert sich das Wasser oder eine andere Hydroxylverbindung unter Protonenabspaltung an.

Ebenso wie Aethylen reagieren ungesättigte Fettsäuremethylester mit Quecksilber(II)-acetat in Methanol.



Liegt eine mittelständige Doppelbindung in dem Ester einer langkettigen Fettsäure vor, so ist es wahrscheinlich, daß sich beide Formen bilden, weil die doppelt gebundenen CH-Gruppen fast gleichwertig sind. Im Falle einer endständigen Doppelbindung, also einer Vinyl-Gruppierung, tritt das Quecksilberatom nach der Regel von Markownikoff an das letzte Kohlenstoffatom. Solche Addukte sind auch die einzigen, welche kristallisieren, alle anderen konnten dagegen bisher nur als zähflüssige Oele erhalten werden. Wahrscheinlich wird auch die Carboxymethyl-Gruppe einen dirigierenden Einfluß auf die Anlagerung haben, wenn die Doppelbindung in ihrer Nähe steht; dieser Effekt ist aber noch nicht näher untersucht worden.

Die Methoxymerkurierung erfolgt in einer spezifischen sterischen Weise. Addukte, die aus cis-Verbindungen gewonnen sind, geben bei der Zerlegung wieder reines cis-Isomeres, auch die trans-Figuration bleibt auf dem Wege der Bildung der Addukte und ihrer Spaltung erhalten. Offenbar unterscheiden sich die beiden geometrischen Isomeren so, daß in einem Falle die d,l-, im anderen die meso-Form gebildet wird. Anders wäre die Rückbildung einer bestimmten geometrischen Form kaum zu verstehen, da im Addukt freie Drehbarkeit der beiden maßgeblichen Kohlenstoffatome vorliegen müßte.

Ein analoges Verhalten zeigen die ungesättigten Fettsäuren bei der Anlagerung von Halogen. So werden aus Oelsäure und Elaidinsäure zwei verschiedene Dibromstearinsäuren erhalten, die bei der Abspaltung des Broms durch Zinkstaub im we-

sentlichen wieder die ursprünglichen Säuren zurückbilden. Allerdings tritt bei der Regenerierung der Säure eine teilweise Isomerisierung ein. Das Ausmaß dieser unerwünschten Umlagerung ist bei der Bromabspaltung aus reiner, kristalliner Tetrabromstearinsäure, erhalten aus natürlicher cis-cis-Linolsäure, wiederholt gemessen worden. Die Angaben für den Gehalt der regenerierten, sogenannten α-Linolsäure an trans-Isomeren liegen gut übereinstimmend um 15 %. Demgegenüber ist die Umlagerung beim Arbeiten über Quecksilberaddukte verschwindend gering. Nach dem Doppelschritt der Anlagerung und der Abspaltung konnte Andreas (19) in keinem der zahlreichen Fälle eine Isomerisierung mit Hilfe der IR-Spektroskopie finden. Nur durch Wiederholung von Bildung und Spaltung des Addukts wurde eine sehr geringe Umlagerung von schätzungsweise 0,5 % je Doppelschritt wahrscheinlich gemacht.

Eine Trennung von Fettsäuren mit Hilfe ihrer Quecksilber-Addukte hat wohl als erster S. H. Bertram (21) durchgeführt. Er reinigte ein Oelsäurepräparat von Stearinsäure, indem er in der Hitze mit Quecksilber(II)-acetat umsetzte, von der beim Abkühlen ausgeschiedenen Stearinsäure abfiltrierte und das in Lösung gebliebene Addukt zerlegte. Der Mangel dieses einfachen Verfahrens liegt einerseits in der hohen, die Addukte gefährdenden Temperatur und andererseits darin, daß die Stearinsäure im Maße ihrer Löslichkeit bei dem ungesättigten Anteil verbleibt. W. Richau (22) vermied diese Unvollkommenheiten, indem er das Gemisch von Stearinsäure und Oelsäure zwischen Isooktan und Methanol, in dem Quecksilber(II)-acetat gelöst war, verteilte. Er erhielt durch einen kurzen Gegenstromprozeß beide Ester in 99 %iger Reinheit mit einer Ausbeute von 86 %.

Schwieriger als die Trennung gesättigter Säuren von den ungesättigten ist die der letzteren voneinander. Y. Inouye, M. Noda und O. Hirayama (23) benutzten Quecksilber-Addukte für die Papierchromatographie von Gemischen ungesättigter Fettsäuren. K. Schilling (24) wandte mit teilweisem Erfolg Quecksilber-Addukte an, um die Säuren partiell hydrierter Oele auf dem Wege der flüssig-flüssig-Verteilung zu analysieren.

Die systematischen Untersuchungen von H. Andreas (19,25) zeigten dann zwei ergiebige Wege, um die Methylester ungesättigter Fettsäuren im präparativen Maßstabe von einander zu scheiden:

1. Trennung auf Grund verschiedener Reaktionsgeschwindigkeit: cis- und trans-Isomere einfach ungesättigter Fettsäureester reagieren verschieden schnell mit Quecksilber(II)-acetat. Das Verhältnis der RG-Konstanten zwischen der cis- und der trans-Form liegt um 10 : 1. Deshalb ist es möglich, durch wenige systematisch aufeinanderfolgende, partielle Umsetzungen aus einem Gemisch die beiden reinen Formen zu erhalten.
2. Trennung der Addukte durch Chromatographie: Setzt man ein Gemisch von Fettsäuremethylestern verschiedenen Sättigungsgrades mit einem Überschuß von Quecksilberacetat um, so reagiert jede der Doppelbindungen. Wird das Reaktionsprodukt dann auf eine Kieselgelsäule gebracht, so kann man mit passenden Laufmitteln nacheinander die gesättigten Ester, die Addukte der Monoene, der Diene und schließlich der Polyene eluieren.

Die von Andreas gewonnenen Erkenntnisse schienen nun in einigen Richtungen einer Erweiterung fähig. So wurde das Ziel der vorliegenden Arbeit dahingehend gesteckt, die folgenden Probleme zu untersuchen:

a) Die Reaktion zwischen den Estern ungesättigter Fettsäuren und Quecksilberacetat in Methanol verläuft langsam. Zu untersuchen war, ob man die Umsetzung durch Katalysatoren beschleunigen kann, ohne dadurch die Spezifität der sterischen Anlagerung aufzuheben.

b) Andreas hatte seine Untersuchungen auf die Ester mit der Kettenlänge C_{18} beschränkt. Es sollte geprüft werden, ob seine Arbeitsverfahren auch für andere Kettenlängen geeignet sind.

c) Für die chromatographische Trennung der Addukte der Diene von denen der Triene hatte Andreas trotz vieler Bemühungen kein geeigneteres Laufmittel gefunden als den Acetessigester, der aber wegen seines hohen Siedepunktes und seiner Reaktionsfähigkeit zu Störungen im Verlauf der Trennungen

Anlaß gab. Die Suche nach einem besseren Elutionsmittel war fortzusetzen.

A L L G E M E I N E R T E I L

I.) Die Methoxymerkurierung von ungesättigten Fettsäuremethylestern

a) Reaktionszeiten

Über die Reaktionsgeschwindigkeit der Umsetzung von ungesättigten Fettsäuremethylestern mit Quecksilber(II)-acetat in methanolischer Lösung hat bisher nur Andreas (19,25) zahlenmäßige Angaben gemacht. Auf Grund von reaktionskinetischen Messungen errechnete er die RG-Konstanten für die Anlagerung an die Methylester der Oelsäure, Elaidinsäure, Erucasäure und Brassidinsäure. Für Linolsäuremethylester konnte er die Konstanten beider Reaktionsstufen ermitteln. Für die Umsetzung mit anderen der zahlreichen, natürlich vorkommenden Fettsäuren fehlen bisher entsprechende Angaben.

Es war nicht das Ziel dieser Arbeit, solche Werte zu ermitteln. Trotzdem erwies es sich als notwendig, mit einer für den praktischen Gebrauch hinreichenden Genauigkeit festzustellen, wieviel Zeit die vollständige Adduktbildung unter bestimmten Konzentrationsverhältnissen in Anspruch nimmt, einmal um vor Fehlschlägen bei der Trennung der Addukte auf Grund ungenügenden Umsatzes sicher zu sein, zum anderen aber, um nicht durch zu lange Dauer die Substanzen zu gefährden oder unnötig Zeit zu verlieren.

Aus vielen Versuchen ergaben sich bestimmte Konzentrationsverhältnisse als günstig für die Bildung der Addukte. Diese im folgenden angegebenen Verhältnisse wurden dann für alle späteren Ansätze, die im Verlauf dieser Arbeit erwähnt sind, beibehalten.

Aus der Jodzahl (JZ) der Substanz läßt sich der theoretische Bedarf an Quecksilber(II)-acetat für die Adduktbildung errechnen. Zweckmäßig arbeitet man mit einem Überschuß von 100 %, so daß sich die anzuwendende Menge Quecksilber(II)-acetat (Merck, rein) je Gramm Fettsäuremethylester aus folgendem Ansatz ergibt:

$$\frac{JZ \cdot 2{,}5}{100} = \text{Gramm Quecksilberacetat}$$

Das Estergemisch wird in Methanol gelöst. Es genügen in der Regel 20 - 30 ml je Gramm Quecksilberacetat. Falls hochmolekulare Ester vorliegen (Kettenlängen der Säuren über C_{22}), muß man unter Umständen wegen der geringen Löslichkeit der gesättigten etwas mehr Methanol verwenden. Man gibt die Lösung in eine Flasche, die dadurch fast gefüllt sein soll, fügt das Quecksilberacetat hinzu, verschließt mit einem gut passenden Schliffstopfen und schüttelt, bis das Acetat gelöst ist; dann läßt man im Dunkeln stehen.

Um die für die Bildung der vollständigen Addukte notwendigen Zeiten zu bestimmen, war es notwendig, den Reaktionsverlauf zu verfolgen. Dafür wurden in einen Meßkolben (100 ml) entsprechende Mengen Fettsäuremethylester und Quecksilberacetat eingewogen und der Kolben mit Methanol aufgefüllt. Von Zeit zu Zeit entnahm man einen aliquoten Teil, z. B. 5 ml, zur Titration.

H. Andreas (19) verfolgte bei der Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten den fortschreitenden Umsatz durch komplexometrische Titration des nicht verbrauchten Quecksilbers. Diese Methode liefert, soweit nur einfach-ungesättigte Fettsäuremethylester in der Reaktionslösung anwesend sind, genaue Ergebnisse. Liegen jedoch mehrfach-ungesättigte Ester vor, z. B. Linolsäuremethylester oder gar Linolensäuremethylester, so wird bei der Titration der Umschlag des Indikators (Eriochromschwarz T unscharf und läuft wieder zurück, was wohl auf eine geringe Zerlegung der Addukte durch Einfluß des Komplexonats unter Abspaltung von Quecksilber-Ionen zurückzuführen ist.

Aus diesem Grunde wurde auf eine Methode zurückgegriffen, die G. Spengler (11) angab. Bei der Adduktbildung wird je Mol Quecksilberacetat ein Mol Essigsäure frei, die man acidimetrisch bestimmen kann. Da die freien Quecksilber-Ionen in der Nähe des Neutralpunktes mit Hydroxyl-Ionen unter Bildung von gelbem Quecksilberoxyd reagieren würden,

$$Hg^{\cdot\cdot} + 2\,OH' \rightarrow HgO + H_2O$$

gibt man vor der Titration 50 ml einer halbgesättigten Kochsalzlösung zur Reaktionslösung. Hierdurch werden die Quecksilber-Ionen komplex in Lösung gehalten, außerdem wird die weitere Adduktbildung verhindert.

Es stellte sich heraus, daß das käufliche Quecksilber(II)-acetat stets etwas von der bei der Reaktion gebildeten Essigsäure verbrauchte, und daß dementsprechend eine zu kleine Säuremenge bei der Titration gefunden wurde. Diese Fehlerquelle ließ sich dadurch ausschließen, daß man neben dem Reaktionsansatz einen Blindversuch ohne Fettsäureester, aber unter Zugabe der für die volle Umsetzung errechneten Essigsäuremenge, laufen ließ. Die Titration eines solchen Blindversuches ergab beispielsweise folgende Werte:

sofort nach dem Durchmischen	214 mg	Essigsäure
nach 1 Stunde	211 mg	
nach 2 Stunden	207 mg	
nach 3 Stunden	204 mg	
nach 1 Tag	203 mg	

Es zeigte sich also eine Abnahme der Essigsäure um 5 %, die wohl darauf zurückzuführen war, daß das verwendete Quecksilberacetat ursprünglich basisches Salz enthielt, das sich nur langsam in das neutrale umwandelte. Unter Berücksichtigung solcher Blindwerte gab die acidimetrische Titration für die Umsetzung von Oelsäuremethylester die gleichen Resultate wie die komplexometrische.

Mit Hilfe dieser Titrationsmethode wurde der Verlauf der Umsetzung für verschiedene Fettsäuremethylester unter den oben angeführten Standardbedingungen verfolgt. In der Tabelle 1 sind die erhaltenen Werte wiedergegeben.

Die Tabelle zeigt, daß die Adduktbildung unter den angewandten Konzentrationsverhältnissen beendet ist:

bei allen einfach-ungesättigten Fettsäuremethylestern, (C_{16} bis C_{22}), die in der cis-Form vorliegen
nach 6 Stunden

bei einfach-ungesättigten Estern in der trans-Form und bei zweifach-ungesättigten Estern
nach 24 Stunden

bei Trienen nach 48 Stunden.

Tabelle 1

Umsetzung ungesättigter Fettsäuremethylester mit Quecksilber(II)-acetat in Methanol

	nach 1/2	1	2	3	6	24	48
Monoene							
Tetradecensäure-methylester a)	80,5	87	93,5	97,5	99,5	100 %	
cis-Hexadecen-säuremethylester	82	92	96,5	99	100 %		
cis-Oktadecen-(Oel-) säure-methylester	86,5	94,5	97,5	99,5	100 %		
cis-Dokosen-(Eruca-)säure-methylester	87,5	95	97,5	99,5	100 %		
trans-Oktadecen-(Elaidin-)säure-methylester	65,5	81,5	90	94,5	98	100 %	
trans-Dokosen-(Brassidin-)säure-methylester	48	72	86,5	94	97,5	100 %	
Diene							
cis-cis-Linol-säuremethylester	76	86	94	96	98,5	100 %	
α-Linol-säuremethylester b)	75	85,5	94	96,5	98,5	100 %	
Triene							
cis-cis-cis-Linolen-säuremethylester	70,5	80	88,5	94	97,5	99	100 %
α-Linolen-säuremethylester c)	69	79	87,5	94	97	99	100 %

Es sei darauf hingewiesen, daß die Doppelbindungen der hier untersuchten Ester nahe der Mitte der Kette lagen. Die endständige Doppelbindung, also die Vinyl-Gruppierung, reagiert nach Erfahrungen, die im hiesigen Institut vorliegen, etwa so schnell

---

a) aus Spermoel, trans-Isomeres enthaltend
b) aus kristalliner Tetrabromstearinsäure, ca. 15 % trans-Isomeres
c) aus kristalliner Hexabromstearinsäure, ca. 20 % trans-Isomeres

wie die in der Mitte. Nach einer mündlichen Mitteilung von Herrn B. Kuchenbuch brauchen aber Doppelbindungen, die sich in der Δ3- oder gar Δ2-Stellung befinden, wesentlich längere Reaktionszeiten. Dies besondere Verhalten solcher Stoffe hat eine Parallele in ihrer Umsetzungsgeschwindigkeit mit Halogen; für die Bestimmung der Jodzahl von Δ2- oder Δ3-ungesättigten Säuren müssen viel schärfere Reaktionsbedingungen angewendet werden als normalerweise.

Die untersuchten Polyene haben isolierte Doppelbindungen; welche Umsetzungszeiten für Konjuene notwendig wären, bleibt offen. Da aber in den meisten natürlichen Oelen nur Säuren der hier untersuchten Typen vorliegen, genügen die aufgeführten Zeitangaben für die normalen Fälle; jedenfalls haben sie sich im hiesigen Institut bei zahlreichen praktischen Trennungen von Gemischen stets bewährt.

b) Beschleunigung der Adduktbildung durch Bortrifluorid

Die verhältnismäßig langen Reaktionszeiten bei der Addukt bildung ließen es zweckmäßig erscheinen, nach Mitteln zur Beschleunigung zu suchen.

Das einfachste Verfahren, um eine Reaktion schneller ablaufen zu lassen, ist meist die Erhöhung der Temperatur. Diesen Weg hatte S. H. Bertram (21) für die Bildung der Addukte gewählt. Man weiß aber schon lange, daß die Quecksilberaddukte empfindlich gegen Wärme sind. Dies haben K. A. Hofmann und J. Sand (1,2,3) festgestellt und spätere Autoren wiederholt bestätigt. Die Erfahrungen von H. Andreas (19) sprechen dafür, daß man keine höheren Temperaturen als 30 bis 35° C anwenden darf. Deshalb sind der Beschleunigung dieser Reaktion durch Steigerung der Temperatur sehr enge Grenzen gesetzt.

Auch der Gedanke, durch Konzentrationserhöhung schneller zum Ziel zu kommen, führt nicht weiter. Versuche von H. Andreas, bei denen in verhältnismäßig starke methanolische Lösungen der Ester kristallines Quecksilberacetat bis zur Sättigung eingetragen wurde, gaben sehr schlechte Trennungen des Reaktionsgemisches bei der Chromatographie. Hierbei blieb allerdings der

Grund offen. Er konnte in unvollständiger Umsetzung oder auch in der Bildung dimolekularer aetherartiger Addukte mit abweichendem chromatographischen Verhalten liegen.

Nachdem schon Andreas festgestellt hatte, daß bei der Bildung des Adduktes aus Oelsäuremethylester und Quecksilberacetat durch Zusätze von Essigsäure keine merkliche Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit statt hat, war es von vornherein wenig wahrscheinlich, daß die laufende Neutralisation der bei der Anlagerung entstehenden Essigsäure einen wesentlichen Einfluß auf den Verlauf haben würde. Eigene derartige Versuche bestätigten die Erwartung.

Als spezifischen Katalysator für die Anlagerung von Quecksilbersalzen an olefinische Doppelbindungen benutzte W. Brown (9) bei Arbeiten über ungesättigte Kohlenwasserstoffe Salpetersäure. Für die in dieser Arbeit vorliegenden Ziele schien das Verfahren aber nicht geeignet, denn man weiß seit den Untersuchungen Hofmanns, daß die Anlagerung in Gegenwart von starken Säuren zu einem Gleichgewicht führt; durch Verwendung der Salpetersäure erkauft man die Beschleunigung der Umsetzung durch Unvollständigkeit. Außerdem besteht die Gefahr, daß Stickoxyde durch Reduktion der Salpetersäure gebildet werden, und diese sind auch in geringen Mengen sehr wirksame Katalysatoren für die cis-trans-Umlagerung.

Über die Beschleunigung der Methoxymerkurierung durch Bortrifluorid liegen Untersuchungen von B. Budsinsky (20) vor. Der genannte Katalysator erwies sich als der wirksamste unter einer Anzahl von geprüften. Er wurde von dem Autor benutzt, um Doppelbindungen in organischen Stoffen mit Hilfe der Anlagerung von Quecksilberacetat quantitativ zu bestimmen, indem man mit einem Überschuß des Acetats vollständig umsetzte und nicht verbrauchtes Quecksilber komplexometrisch zurücktitrierte.

Um den Einfluß des Bortrifluorids auf die Methoxymerkurierung von Fettsäuremethylester festzustellen, habe ich die Versuche des vorangehenden Kapitels unter Zusatz des Katalysators wiederholt. Zum Verfolgen des Reaktionsablaufs wäre die

Methode von Budesinsky[1], aus dem Quecksilber-Verbrauch auf die Größe der Umsetzung zu schließen, ohne weiteres geeignet gewesen, wenn nicht die oben genannten (s. S. 14) Schwierigkeiten wegen der Rückspaltung der Addukte aus Linolsäure- und Linolensäure-Methylester bestanden hätten.

So habe ich geprüft, ob die acidimetrische Titration auch in Gegenwart von Bortrifluorid durchgeführt werden konnte. Die bei der Hydrolyse des Borfluorids entstehende Borsäure und Fluoborsäure

$$4\ BF_3 + 3\ H_2O \longrightarrow H_3BO_3 + 3\ HBF_4$$

verbrauchten ein Vielfaches der zur Neutralisation der Essigsäure nötigen Laugenmenge, so daß die Bestimmung mit hohen Blindwerten belastet war. Hinzu kam, daß die Titration der Borsäure mit Lauge bekanntermaßen wenig genau ist. Hauptsächlich aus diesen beiden Gründen führten meine Versuche, auch die unter Zusatz von Glyzerin oder Maltose, nicht zu hinreichend scharfen Werten für die Größe der Umsetzung.

So mußte doch wieder auf die komplexometrische Titration zurückgegriffen werden. Titriert man sehr schnell mit n/10 Komplexonat-Lösung bis zum ersten Umschlag, dann kommt man doch zu brauchbaren Resultaten mit einer Fehlergrenze von + 0,5 %.

Die der Tabelle 1 zugrunde liegenden Versuche wurden unter den gleichen Konzentrationsverhältnissen wiederholt mit dem Unterschied, daß das verwendete Methanol 0,7 % Borfluorid-Ätherat enthielt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 2 aufgeführt.

---

[1] Budesinsky hat auch Oelsäure in seine Untersuchungen einbezogen und verdünnt dabei die Lösung vor dem Titrieren mit Aethanol, um das Addukt in Lösung zu halten. Eigene Versuche ergaben, daß Aethanol dazu nicht geeignet ist, sondern falsche, von der Aethanol-Konzentration abhängige Ergebnisse hervorruft. Dagegen liefert die Hg-Bestimmung in methanolischen Lösungen unabhängig vom Methanolgehalt exakte Werte.

Tabelle 2

Umsetzung von ungesättigten Fettsäuremethylestern mit Quecksilber(II)-acetat in methanolischer Lösung bei Gegenwart von Bortrifluorid

	nach 1/4	1/2	1	2	4 Std.
Monoene					
Tetradecensäuremethylester	99	100 %			
cis-Hexadecensäuremethylester	99	100 %			
cis-Oktadecen-(Oelö)säuremethylester	100 %				
cis-Dodecen-(Eruca-)säuremethylester	100 %				
trans-Oktadecen-(Elaidin-)säuremethylester	100 %				
trans-Dodecen-(Brassidin-)säuremethylester	99	100 %			
Diene					
cis-cis-Linolsäuremethylester	98	100 %			
α-Linolsäuremethylester	98	100 %			
Triene					
cis-cis-cis-Linolensäuremethylester	91	94	96	99	100 %
α-Linolensäuremethylester	90	94	97	99	100 %

Die Tabelle zeigt, daß die Bildung der Addukte durch Borfluorid stark beschleunigt wird; größenordnungsmäßig auf das 10-fache. Selbst der sonst nur schwer voll umzusetzende Linolensäureester reagiert in wenigen Stunden durch. In der Praxis hat es sich gut bewährt, die Adduktbildung über Nacht laufen zu lassen, um am nächsten Tage die Reinigung der Addukte und ihre chromatographische Trennung ohne Unterbrechung durchführen zu können.

c) Zur Frage der cis-trans-Isomerisierung durch Bortrifluorid

Nachdem sich gezeigt hatte, daß man die Bildung der Addukte durch Borfluorid stark beschleunigen kann, war die Frage zu beantworten, ob bei der Anwendung dieses Katalysators Isomerisierungen auftreten. Oelsäuremethylester, der im IR-Spektrum keine trans-Bande (bei 965 cm^{-1}) zeigte, wurde mit Quecksilberacetat in Gegenwart von Borfluorid umgesetzt und wieder regeneriert. Der zurückgewonnene Ester zeigte keine trans-Bande im IR-Spektrum, auch nicht nachdem das Präparat noch zweimal in der gleichen Weise behandelt worden war. Ebenso konnte man bei einer C_{18}-Fraktion aus frischgewonnenem Hanfoel nach der durch Borfluorid katalysierten Umsetzung mit Quecksilberacetat und der Trennung der verschiedenen Addukte in keinem der drei IR-Spektren von Oelsäure-, Linolsäure- und Linolensäure-Methylester eine trans-Bande erkennen.

Allgemein konnte in meinen Versuchen nach der Bildung der Addukte mit Hilfe von Borfluorid niemals ein trans-Isomeres spektroskopisch nachgewiesen werden, sofern die angewandten Fettsäureester aus Pflanzen stammten. Dagegen traten nach der Trennung von Estern aus Spermoel in zwei Fällen trans-Banden im Spektrum auf, die auf Gehalte von 5 - 10 % trans-Verbindungen schließen ließen. Es zeigte sich aber, daß diese Isomeren bereits in dem Ausgangsmaterial vorlagen, denn als man die gesättigten Anteile der Ausgangspräparate durch Tieftemperatur-Kristallisation weitgehend entfernte, gaben die ungesättigten ebenfalls die trans-Bande, und zwar in derselben Stärke.

Nach alledem darf man damit rechnen, daß durch Borfluorid unter den bei der Adduktbildung vorliegenden Bedingungen keine Isomerisierungen eintreten, welche die Nachweisgrenze eines IR-Spektrums (1 - 2 %) überschreiten.

II. Abtrennung des Borfluorids von den Addukten

Wenn Addukte in Methanol unter Zusatz von Borfluorid gebildet worden sind, so liegt dieser Katalysator als Alkoholat in einer schwerflüchtigen Form vor und läßt sich nicht durch Abdestillieren beseitigen. Beim Einengen einer methanolischen, Borfluorid enthaltenden Adduktlösung zersetzt sich das Reaktionsprodukt unter Schwarzfärbung, sobald der größere Teil des Lösungsmittels abgetrieben ist. Das Borfluorid muß also vor der Beseitigung des Lösungsmittels entfernt werden. Hierfür wurden zwei Methoden ausgearbeitet:

a) Durch Ionenaustauscher

Es war zu erwarten, daß man Borfluorid aus der methanolischen Lösung durch einen stark basischen Ionenaustauscher entfernen konnte. Bei diesem Prozeß mußte nebenher auch die bei der Adduktbildung entstandene freie Essigsäure durch den Austauscher gebunden werden. Benutzt wurde die Handelsware Dowex 2X8 (20 - 50 mesh), die mit Chlor-Ionen beladen geliefert wird. Um OH-Ionen einzuführen, wurde der Austauscher in einer Säule mit 5 %iger Natronlauge gewaschen, bis die Reaktion auf Chlor-Ionen im Elut nur noch schwach war. Dann wusch man mit Wasser neutral und verdrängte das Wasser aus der Säule mit Methanol. Nachdem die Reaktionslösung langsam durch den Ionenaustauscher gelaufen war, zeigte sich bei der Untersuchung des Eluts, daß nicht nur Borfluorid und Essigsäure zurückgehalten worden waren, sondern auch das überschüssige Quecksilberacetat.

Allerdings waren die abfließenden Lösungen schwach gelblich trübe, enthielten also wahrscheinlich etwas von fein verteiltem Quecksilberoxyd. Dieses flockte zwar nach einiger Zeit aus und ließ sich leicht abfiltrieren, doch schien es besser, seine Entstehung zu vermeiden. Wenn der handelsübliche Austauscher statt mit Natronlauge mit 5 %iger wässeriger Sodalösung behandelt wurde, blieb die gelbliche Trübung aus, und es fielen völlig klare, farblose Elute an, welche die Addukte enthielten.

Um die Aufnahmefähigkeit des Ionenaustauschers zu prüfen, wurden von einer methanolischen Lösung, die in ihrem Gehalt an Quecksilberacetat, Borfluorid und Essigsäure der Zusammensetzung einer Adduktlösung entsprach, soviel durch eine Ionenaustauschersäule gegeben, daß der Durchbruch eines der gelösten Stoffe erfolgte.

Der Durchbruch der Säuren war an der Änderung des p_H-Werts des Eluts, der des Quecksilberacetats durch Tüpfeln mit alkoholischer Diphenylcarbazon-Lösung (intensive Violett-Färbung mit Quecksilberionen) und der des Borfluorids durch Verbrennen eines Tropfens des Eluts am Magnesiastäbchen (grüne Flamme) leicht festzustellen.

Um Borfluorid, Quecksilberacetat und Essigsäure vollständig aus 50 ml einer Reaktionslösung der oben genannten Konzentration zu entfernen, muß man 25 bis 30 g Dowex 2X8 anwenden. Da Borfluorid stets zuerst durchbricht, wenn der Ionenaustauscher nicht ausreicht oder auf Grund einer falschen Vorbehandlung zu wenig wirksam ist, kann man die Reinheit des abtropfenden Eluts leicht durch das Verbrennen eines Tropfens kontrollieren.

Nun war noch zu prüfen, ob die Addukte erstens quantitativ und zweitens in der ihnen zustehenden stöchiometrischen Zusammensetzung die Säule passierten. Besonders hinsichtlich der zweiten Frage bestanden starke Zweifel, da ja feststand, daß die Addukte der Diene und Triene verhältnismäßig leicht zurückgespalten werden. Dieser Zweifel wurde durch die Beobachtung verstärkt, daß überschüssiges Quecksilberacetat vom Ionenaustauscher so fest gebunden wurde, daß der Versuch, es abzulösen, Schwierigkeiten machte (s. S. 57).

Beide Fragen ließen sich dadurch beantworten, daß man gewogene Mengen der Ester von Oel-, Linol- und Linolensäure mit Quecksilberacetat umsetzte und durch die Dowex-Säule gab. Mit Methanol wurde so lange nachgewaschen, bis das Elut quecksilberfrei war, also die Addukte quantitativ aus der Säule gespült waren. Die Elute wurden mit einigen Tropfen konzentrierter Salpetersäure angesäuert und mit einem Überschuß von n/10 methano-

lischer Ammonrhodanid-Lösung versetzt. Durch die Rhodanwasserstoffsäure wurden die Addukte unter Bildung von freiem Ester und von Quecksilber(II)-rhodanid schnell zersetzt. Der Überschuß des Rhodanids hätte mit Silbernitrat und Eisen(III)-Ionen als Indikator zurücktitriert werden können. Da es aber bekanntlich besser ist, Silbernitrat vorzulegen und mit Rhodanid zu titrieren, wurde nach der vollständigen Zersetzung (30 Minuten) n/10 Silbernitratlösung im Überschuß zugegeben und mit n/10 Ammonrhodanidlösung zurücktitriert.

In allen Fällen wurden genau die Quecksilbermengen gefunden, welche den Einwaagen der Ester, berechnet auf volle Addukte, entsprachen. Daraus durfte man folgern, daß die Addukte quantitativ und ungeschädigt die Säule passieren. Diese Feststellung überrascht insofern etwas, als Quecksilberacetat von dem Austauscher sehr fest gehalten wird.

Von der Seite des Effekts her betrachtet, hat das vorstehend beschriebene Verfahren zur Abtrennung des Borfluorids keine Fehler. Man darf aber nicht übersehen, daß Zeit für das Präparieren des Austauschers gebraucht wird und daß man diesen wegen seines verhältnismäßig hohen Preises bei Verwendung größerer Mengen wird regenerieren wollen; dieses ist aber wegen des fest haftenden Quecksilbers ziemlich umständlich (s. S. 57).

b) Durch Waschen mit Wasser

Da die unerwünschten Begleitstoffe der Addukte, nämlich Borfluorid, Quecksilberacetat, Essigsäure und Methanol viel besser wasserlöslich sind als die Addukte selbst, wurde die Abtrennung durch Verteilung zwischen Wasser und Benzol untersucht. Die Verwendung von Benzol als Extraktionsmittel empfahl sich deshalb, weil die Addukte in diesem Lösungsmittel auf die chromatographische Säule gegeben werden sollten.

Die methanolische Reaktionslösung wurde mit je dem gleichen Volumen Wasser und Benzol versetzt und geschüttelt. Nachdem die wässerige Phase noch zwei- bis dreimal mit insgesamt dem gleichen Volumen Benzol nachgewaschen und die vereinigten Extrakte mit Natriumsulfat getrocknet waren, wurde die Lösung unmittelbar für die Chromatographie verwendet.

Angewendet auf ein Gemisch aus Stearinsäure- und Oelsäure-Methylester, bewährte sich dieses sehr einfache, schnelle Verfahren vorzüglich. Beide eingewogenen Ester wurden quantitativ in reiner Form wiedergewonnen. Aus einem Gemisch von Estern der Stearinsäure, Oelsäure, Linolsäure und Linolensäure fiel nach der Chromatographie nur der Stearinsäureester einheitlich an. Im übrigen waren die Produkte unrein und die Übergänge zwischen ihnen verwischt. Offensichtlich waren in der wässerigen Phase die Addukte der Polyene teilweise zu niederen abgebaut worden.

Das Verfahren ist also in der beschriebenen Form dann zu empfehlen, wenn die Ester von gesättigten Säuren von denen der ungesättigten abgeschieden werden sollen. Dieser Fall kann leicht eintreten, wenn in einem natürlichen Gemisch die gesättigten Säuren so stark überwiegen, daß man zunächst nur an einem Konzentrieren der ungesättigten interessiert ist. Man nimmt dann für den Vorteil schneller Durchführung eine Wiederholung der Trennung, um die ungesättigten Ester zu scheiden, in Kauf.

III. Regenerierung der Fettsäuremethylester aus den Addukten

Zur Spaltung der Addukte gab H. Andreas (19) wässerige Salzsäure in eine methanolische Lösung des Addukts und mischte mit Petroläther, um die freiwerdenden Ester aufzunehmen. Da zwei Phasen vorlagen, mußte längere Zeit geschüttelt werden. Die Reaktionsgeschwindigkeit in diesem heterogenen System war nicht groß und die Abspaltung des Quecksilbers mitunter nicht ganz vollständig, so daß sich bei der weiteren Reinigung des Esters Quecksilber hin und wieder störend bemerkbar machte (z. B. als leichter grauer Beschlag beim Destillieren). Die Spaltung mit Ammonrhodanid, die oben schon für die quantitative Bestimmung des in einem Addukt enthaltenen Quecksilbers (s. S. 24) beschrieben worden war, beseitigt alle Schwierigkeiten.

Zur Regenerierung der Ester werden die bei der chromatographischen Trennung anfallenden Fraktionen, welche die Addukte in verschiedenen Lösungsmitteln enthalten, im Vakuum eingedampft, in Methanol (etwa 1 : 25) aufgenommen und mit Ammonrhodanid versetzt. Wichtig ist das Ansäuern der Lösung, denn bei der Reaktion des Addukts mit Ammoniumrhodanid bilden sich neben dem freien Ester und Quecksilber(II)-rhodanid je Mol Quecksilber ein Mol Essigsäure und zwei Mol Ammoniak. Eine nicht angesäuerte Lösung wird also in zunehmendem Maße alkalisch. Dann spielen sich unerwünschte Nebenreaktionen ab, die zu schwerlöslichen, durch feinverteiltes Quecksilber grau bis schwarz gefärbten Niederschlägen führen. Diese Niederschläge, die zwar die Vollständigkeit der Spaltung nicht beeinträchtigen, aber bei der Weiterverarbeitung stören, treten im sauren Medium nicht auf. Daher wird vor der Zugabe des Ammonrhodanids mit etwa 1 ml konzentrierter Salzsäure je Gramm Addukt angesäuert und dann etwa 1 g Ammonrhodanid je Gramm Addukt zugegeben. Da eine homogene Lösung[1)] entsteht, ist es bei dieser Methode überflüssig zu

1) Ein weiterer Überschuß von Salzsäure oder Ammonrhodanid schadet nicht; es treten dann aber mitunter Konzentrationsfällungen (z. B. von Quecksilberrhodanid) auf, die sich jedoch bei der weiteren Aufarbeitung nach der Zugabe von Wasser wieder lösen. Da die Salzsäure meist eisenhaltig ist, färbt sich die Lösung rosa; Polyene wirken farbvertiefend.

schütteln. Nach 30 Minuten verdünnt man die Lösung mit Wasser auf mindestens das Doppelte und extrahiert die Fettsäureester mit Petroläther (Siedeber. 30 bis 50° C). Die Petrolätherphase wird zweimal mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Petroläthers (bei mehrfach ungesättigten Estern unter Stickstoff), werden die Fettsäuremethylester durch eine Vakuumdestillation im Zweikugelrohr gereinigt.

IV. Chromatographische Trennung der Addukte

Nachdem die Methoden zur Bildung und Reinigung der Addukte, sowie zur Regenerierung der Ester näher untersucht und verbessert worden waren, galt es nun, den Anwendungsbereich abzustekken. H. Andreas (19,25) hatte sich bei seinen Untersuchungen auf Fettsäuremethylester einer Kettenlänge von 18 Kohlenstoffatomen beschränkt. Seine Methoden waren im hiesigen Institut in einigen speziellen Fällen auch zur Analyse von Fettsäuremethylestern anderer Kettenlänge angewendet worden. Dabei hatte sich gezeigt, daß Unterschiede im chromatographischen Verhalten der Addukte aus Säuren verschiedener Kettenlänge auftraten, und die Vorstellung entwickelt, daß die Laufmittel der Kettenlänge angepaßt werden müßten. Es schien so, als ob mit fallendem Molekulargewicht der in den Addukten enthaltenen Fettsäuren die Haftfestigkeit auf dem Kieselgel erheblich anwuchs. Um diese Zusammenhänge zu klären, habe ich Fraktionen von Fettsäureestergemischen einheitlicher Kohlenstoffzahl aber verschiedenen Sättigungsgrades im Bereich der Kettenlänge C_{10} bis C_{22} für Trennversuche herangezogen; die meisten dieser Gemische waren natürliche.

Im folgenden werden die Ergebnisse, die mit solchen Gemischen gewonnen wurden, nach steigender Kohlenstoffzahl geordnet, aufgeführt. Da sich die Arbeitsverfahren weitgehend gleichen, werden nur die Besonderheiten für die Darstellung und Reinigung der Addukte, die chromatographische Trennung und die Regeneration der Ester gebracht. Nähere Angaben sind in einem speziellen Kapitel im praktischen Teil dieser Arbeit zu finden (s. S. 54).

a) Fettsäuremethylester C_{10}

Zur Verfügung stand die C_{10}-Fraktion (3,5 g) aus einem Gemisch von Spermoelfettsäure-Methylestern, die durch eine Vakuumdestillation mit einer Ringspaltsäule gewonnen worden war. Die Substanz (Jodzahl 2,5)[1] wurde in 10 ml Methanol,

[1] Bestimmt, wie alle in dieser Arbeit angegebenen Jodzahlen, als Mikrojodzahl nach H. P. Kaufmann (26).

das 0,7 % Bortrifluoridätherat enthielt, gelöst und mit 250 mg Quecksilberacetat versetzt.

Da mehrfach ungesättigte Fettsäuremethylester in dieser Fraktion nicht zu erwarten waren, somit also nur eine Trennung der einfach-ungesättigten von den gesättigten Estern in Frage kam, konnte die Reaktionslösung durch Ausschütteln mit Wasser gereinigt werden. Nach einstündiger Reaktionszeit wurde zwischen Wasser und Benzol verteilt und die benzolische Addukt-lösung durch eine Kieselgelsäule (5 g Kieselgel für die Verteilungschromatographie, Riedel de Haen) gegeben. Die Addukte wurden mit 20 ml Methanol, das 5 % Eisessig enthielt, desorbiert. Aus den beiden Fraktionen konnten durch Regenerierung folgende Ester gewonnen werden:

	Ausbeute		Jodzahl	
	ber.	gef.	ber.	gef.
Decansäuremethylester	3,44 g	3,40 g (99 %)	0	0,1
Decensäuremethylester	63 mg	50 mg (80 %)	137,8	-

Auf die Bestimmung der Jodzahl wurde wegen der Kleinheit der Menge verzichtet. Gaschromatographisch untersucht, erwies sich die Substanz als einheitlich[1].

Es war also gelungen, die gesättigten von den ungesättigten Estern zu trennen. Aus der Beobachtung, daß das Addukt dieser Fraktion kristallin anfiel, ließ sich der Schluß ziehen, daß hier der $\Delta 9$-Decensäuremethylester vorlag, denn es ist schon wiederholt im hiesigen Institut festgestellt worden, daß nur Fettsäuremethylester mit endständiger Doppelbindung, also solche mit Vinyl-Gruppierung, kristalline Addukte bilden.

b) Fettsäuremethylester C_{12}

Die Trennung wurde mit einer C_{12}-Fraktion aus Spermoelmethylestern durchgeführt. 40 g Ester (JZ 7,0) wurden in 200 ml Methanol (borfluorid-haltig) gelöst und mit 7 g Quecksilberacetat versetzt. Auch hier konnten nach einer einstündigen

---

[1] Für diese und die folgenden gaschromatographischen Untersuchungen bin ich Herrn H. Oertel besonderen Dank schuldig.

Umsetzung die Begleitstoffe durch Ausschütteln mit Wasser entfernt werden, da die ungesättigten Ester wegen ihrer geringen Konzentration zunächst nur von den gesättigten abgetrennt werden sollten. Nach dem Ausschütteln ließ man die benzolische Lösung (1000 ml) durch eine Säule, die mit 100 g Kieselgel gefüllt war, laufen und eluierte die Addukte mit Methanol/Eisessig, bis das abtrofpende Elut frei von Quecksilber war. Die Aufarbeitung der beiden Fraktionen ergab:

	Ausbeute	Jodzahl	
		ber.	gef.
Gesättigter Ester	37,2 g	0	0,5
Ungesättigter Ester	2,2 g	119,5	103,0

Die erste Fraktion bestand aus Laurinsäuremethylester. Die Jodzahl der zweiten Fraktion war für Dodecensäuremethylester zu niedrig, die Trennung war also unvollständig.

In vielen Versuchen, bei denen die zu scheidenden Ester in einem ähnlich ungünstigen Mischungsverhältnis wie hier (16 : 1) vorlagen, wurde die Erfahrung gesammelt, daß die chromatographische Trennung dann nicht ganz vollständig verlief, wenn das Verhältnis der zu scheidenden Ester unter etwa 10 : 1 lag. Eine Wiederholung der Trennoperation führte meist zum gewünschten Erfolg.

Die zweite Fraktion wurde also erneut mit 6 g Quecksilberacetat in 150 ml Methanol (borfluorid-haltig) umgesetzt und wie zuvor verarbeitet. Kieselgelmenge: 75 g

Eluiert mit	Ausbeute	Jodzahl	
		ber.	gef.
Benzol	0,4 g	0	2,0
Methanol/Eisessig	1,7 g	119,5	119,0

Damit lag auch der Dodecensäuremethylester in großer Reinheit vor. Die durch die Jodzahlen ermittelten Reinheitsgrade wurden durch Gaschromatogramme bestätigt.

Zusammenfassung der beiden Trennungen:

	Ausbeute in g		Jodzahl	
	ber.	gef.	ber.	gef.
Dodecansäuremethylester	37,7	37,2 (99 %)	0	0,5
Zwischenfraktion		0,4		2,0
Dodecensäuremethylester	2,3	1,7 (75 %)	119,5	119,0

c) Fettsäuremethylester C_{14}

50 g einer aus Spermoelfettsäuremethylestern durch Destillation gewonnenen C_{14}-Fraktion (JZ 25,0) wurden mit 30 g Quecksilberacetat und 800 ml Methanol (borfluorid-haltig) versetzt. Auch hier sollten zunächst nur die gesättigten von den ungesättigten Estern getrennt werden, um letztere anzureichern. Nach einer Stunde wurde wie üblich mit Wasser und Benzol ausgeschüttelt und die benzolische Lösung (1250 ml) durch Kieselgel (400 g) gegeben. Nach dem Auswaschen des gesättigten Esters, eluierte man mit Methanol/Eisessig. Es wurde erhalten:

	Ausbeute in g		Jodzahl	
	ber.	gef.	ber.	gef.
Tetradecansäure-methylester	38,3	37,0 (98 %)	0	0,6
Tetradecensäure-methylester	11,7	10,8 (92 %)	105,5	105,0

Wegen des günstigeren Mischungsverhältnisses war hier die Trennung im Gegensatz zur Scheidung der C_{12}-Fraktion gleich beim ersten Male gelungen. Die Reinheit der beiden Ester zeigte sich auch durch eine gaschromatographische Untersuchung. Auf diese Aussage darf man mehr Gewicht legen als auf den Wert der Jodzahl. Die von der Theorie geforderte Jodzahl kann ein Präparat aus Fettsäuremethylestern auch dann aufweisen, wenn Bestandteile niederen oder höheren Sättigungsgrades zufällig in solchen Mengenverhältnissen vorliegen, daß der Jodverbrauch dem dazwischenliegenden Sättigungsgrad entspricht.

d) Fettsäuremethylester C_{16}

Da kein geeignetes natives Gemisch zur Verfügung stand, mischte ich 1 g Palmitin- und 1 g Palmitoleinsäuremethylester,

löste in 60 ml Methanol (borfluorid-haltig) und gab 2 g Quecksilberacetat hinzu. Die Aufarbeitung und Trennung erfolgte wie bei den schon beschriebenen Beispielen.
Ausbeute:

	Ausbeute in g		Jodzahl	
	ber.	gef.	ber.	gef.
Palmitinsäure-methylester	1,0	0,9	0	0,4
Palmitoleinsäure-methylester	1,0	0,9	94,7	93,8

e) Fettsäuremethylester C_{18}

Die chromatographische Trennung von Stearinsäure-, Oelsäure- und Linolsäure-Methylester hat H. Andreas (19) ausführlich beschrieben. Hier soll nur auf eine Verbesserung seines Verfahrens eingegangen werden, die auf die Abscheidung letzter Anteile von ungesättigten Estern aus gesättigten zielt.

Andreas hatte in einem Falle bei der Trennung einer C_{18}-Fraktion aus Leinoel beobachtet, daß die Stearinsäureester-Fraktion nicht in der erwarteten Reinheit anfiel, sondern noch ungesättigte Bestandteile enthielt. Auch bei meinen Trennungen von C_{18}-Methylestern verschiedener Herkunft (ebenso bei C_{20} und C_{22}-Estern) gelang es nie, ganz reine gesättigte Fraktionen zu erhalten, sondern nur solche mit Jodzahlen von 5 bis 20. Eine nähere Untersuchung zeigte, daß der Grund nicht in einer unvollständigen Adduktbildung bestand, sondern in der Tatsache, daß die Addukte der einfach ungesättigten Fettsäuremethylester mit der Kettenlänge C_{18} und höher vom Kieselgel unter Umständen nicht vollständig adsorbiert werden. Dies kann verschiedene Ursachen haben.

Das Addukt des Oelsäuremethylesters läßt sich, wie Andreas (19) feststellte, aus der Kieselgelsäure schon mit Benzol, das 2 % Aethanol enthält, auswaschen. Eine ähnliche Wirkung wie diese geringe Aethanolmenge haben Methanol oder Essigsäure. D. h., wenn es bei der Reinigung der Addukte nicht gelingt, Methanol und besonders die Essigsäure vollständig zu entfernen, so wirken sie beim Auftragen der Addukte in benzolischer Lösung auf

die Kieselgelsäule schon eluierend bzw. verhindern eine vollständige Adsorption. Speziell die Essigsäure läßt sich auch durch mehrmaliges Eindampfen einer benzolischen Adduktlösung, besonders bei großen Ansätzen und Anwesenheit von sehr zähflüssigem Linolsäureester-Addukt, nur sehr schwer entfernen.

Auch große Mengen von gesättigten Estern haben einen ähnlichen eluierenden Einfluß. Man kann diesen zwar durch größere Verdünnung der benzolischen Adduktlösung mindern, aber nicht mit durchgreifendem Erfolg, da das Addukt aus sehr verdünnten Lösungen entsprechend schlechter durch das Kieselgel adsorbiert wird.

Es ist einfacher, diesen Nachteil hinzunehmen und unreine gesättigte Fraktionen durch eine erneute Trennoperation zu reinigen. Eine Wiederholung mit der gleichen Methode hat allerdings nur einen beschränkten Erfolg, da die grundsätzlichen Schwierigkeiten bestehen bleiben.

Als besser erwies sich folgender Weg: Ein Gemisch aus Stearin- und Oelsäuremethylester (1 g) (JZ 20) wurde wie üblich in Methanol mit Quecksilberacetat umgesetzt und eingedampft. Nun wurde nicht mit Benzol, sondern mit Petroläther (Siedegrenzen 70/90° C) extrahiert und die Lösung über eine mit Petroläther präparierte Kieselgelsäule gegeben. Das Kieselgel adsorbierte aus der Lösung nicht nur das Addukt, sondern auch den gesättigten Ester. Eluierte man anschließend mit Benzol, so wurde nur der gesättigte Ester desorbiert. Das Addukt wurde dann mit Methanol/Eisessig aus der Säule gespült. Die Trennung hatte folgendes Ergebnis:

	Ausbeute in g		Jodzahl	
	ber.	gef.	ber.	gef.
Stearinsäure-methylester	0,77	0,75 (97 %)	0	0,1
Oelsäuremethyl-ester	0,23	0,12 (52 %)	85,6	84,2

Das Verfahren ist besonders dann geeignet, wenn eine reine gesättigte Fraktion angestrebt wird. Bei den ungesättigten Anteilen treten mehr oder weniger große Verluste auf, da deren Addukte im Petroläther nicht gut löslich sind.

f) Fettsäuremethylester C_{20}

3,0 g einer aus Rüboelfettsäuremethylestern gewonnenen C_{20}-Fraktion (JZ 66,4) wurde mit 5 g Quecksilberacetat und 100 ml Methanol (borfluorid-haltig) über Nacht umgesetzt. Da in diesem Falle nicht nur die gesättigten von den ungesättigten Estern, sondern auch die ungesättigten Ester voneinander getrennt werden sollten, ließ man die Reaktionslösung zur Reinigung über Ionenaustauscher (50 g Dowex 2X8) laufen, verdampfte das Methanol und nahm in 75 ml Benzol auf. Die Lösung wurde durch Kieselgel (70 g) gegeben. Die 1. Fraktion fiel mit dem Benzol an. Dann wurde mit Aether so lange eluiert, bis die Quecksilber-Reaktion gegen Diphenylcarbazon negativ war (2. Fraktion) und schließlich mit Methanol/Eisessig nachgewaschen (3. Fraktion). Nach der Aufarbeitung wurden erhalten:

		Jodzahl	
		ber.	gef.
1. Fraktion	0,75 g Ester	0	8,2
2. "	1,30 g	78,4	77,6
3. "	0,70 g	-	95,6
	2,75 g (92 %)		

Die 1. Fraktion enthielt auf Grund der im vorhergehenden Abschnitt erläuterten Ursachen noch etwa 10 % ungesättigte Ester. Die Substanz wurde erneut mit Quecksilberacetat in Methanol umgesetzt und nach dem Eindampfen in Petroläther aufgenommen. Durch Kieselgel wurde sowohl der gesättigte Ester wie auch das Addukt adsorbiert. Durch Eluieren mit Benzol konnte eine gereinigte gesättigte C_{20}-Fraktion (0,62 g; JZ 0,5) gewonnen werden.

Die Jodzahl der 2. Fraktion stimmte gut mit der eines einfach-ungesättigten C_{20}-Fettsäuremethylesters überein.

Die 3. Fraktion zeigte eine Jodzahl, die zwischen der des einfach- und des zweifach-ungesättigten Esters (157,4) lag. Es war also nicht gelungen, das Monoaddukt vollständig mit Aether zu eluieren. Die Beobachtung, daß ein Lösungsmittel zwar schnell eine Teilmenge eines Addukts desorbiert,

den Rest aber auch nicht bei Anwendung großer Volumina, wurde auch in anderen Fällen gemacht. Diese Erscheinung soll in einem anderen Zusammenhang besprochen werden (s. S.46); sie beruht offenbar auf dem Vorhandensein verschieden starker Adsorptionszentren im Kieselgel. Die 3. Fraktion wurde noch einmal mit Quecksilberacetat und Methanol umgesetzt, mit Hilfe des Ionenaustauschers gereinigt und auf eine Kieselgelsäule gebracht. Die Mono-Addukte löste man mit dem stärker eluierenden Essigester ab, die Di-Addukte mit Methanol/Eisessig.

		Jodzahl	
Eluiert mit		ber.	gef.
Essigester	0,55 g Ester	78,4	77,8
Methanol/Eisessig	0,15 g	157,4	155,2

Damit war auch die Trennung der einfach- und zweifach-ungesättigten C_{20}-Fettsäuremethylester gelungen. Faßt man die 3 Trennungsoperationen zusammen, so ergibt sich folgendes Bild:

		Jodzahl	
		ber.	gef.
gesättigter Ester	0,62 g	0	0,5
einfach ungesättigter Ester	1,85 g	78,4	77,7
zweifach " "	0,15 g	157,4	155,2
	2,62 g (87 %)		

g) Fettsäuremethylester C_{22}

4,5 g einer C_{22}-Fraktion aus Rüboelfettsäure-Methylester (JZ 75,0) wurden in 200 ml Methanol (borfluorid-haltig) mit 8,5 g Quecksilberacetat versetzt. (Die Substanz löste sich erst nach Zugabe des Quecksilberacetats, also mit Beginn der Adduktbildung, vollständig.) Es wurde in der gleichen Weise, wie bei den C_{20}-Estern beschrieben, verfahren, nur daß hier das Mono-Addukt auf Grund der dort gemachten Erfahrungen mit Essigester eluiert wurde. Die Trennung hatte folgendes Ergebnis:

	Ausbeute	Jodzahl	
Eluiert mit		ber.	gef.
Benzol	40 mg	0	8,0
Essigester	3,9 g	72,5	72,3
Methanol/Eisessig	0,3 g	145,0	135,1

Fraktion 1: Auch hier ist die Jodzahl der Fraktion des gesättigten Esters, wie schon bei den C_{18}- und C_{20}-Fraktionen beobachtet, etwas zu hoch. Eine weitere Reinigung entfiel, weil die Substanz für die Analyse verbraucht war.

Fraktion 2: Gute Übereinstimmung der Jodzahl.

Fraktion 3: Die Jodzahl entsprach noch nicht der des reinen Diens. Es sei aber an die Regel erinnert, daß ein Ester, dessen Konzentration unter 10 % liegt, meistens unrein anfällt. Daher war eine Wiederholung der chromatographischen Trennung nötig. Es wurde wie üblich mit Quecksilberacetat (1 g) und 25 ml Methanol umgesetzt, mit Hilfe des Ionenaustauschers gereinigt und vom Kieselgel (15 g) zuerst mit Essigester und dann mit Methanol/Eisessig desorbiert.

	Ausbeute	Jodzahl	
Eluiert mit		ber.	gef.
Essigester	30 mg	72,5	76,0
Methanol/Eisessig	240 mg	145,0	146,0

h) Das Verhalten der Mono-Addukte von Fettsäuremethylestern verschiedener Kettenlänge bei der chromatographischen Trennung

Die voranstehenden, unter a) bis g) aufgeführten Trennungen haben gezeigt, daß man die Ester der einfach ungesättigten Fettsäuren in einem weiten Bereich der Kettenlänge C_{10} bis C_{22} mit Hilfe von Quecksilberaddukten bequem isolieren kann. Die Bedingungen waren in diesen Versuchen jeweils der Art der Gemische angepaßt und unterschieden sich im wesentlichen durch die Wahl der Laufmittel für die einzelnen Addukte bei der chromatographischen Trennung. Nach den dabei gesammelten Erfahrungen und den Beobachtungen, die im hiesigen Institut gelegentlich bei der Durchführung von chromatographischen Trennungen von Addukten gemacht wurden, kann man eine Reihe aufstellen, in der die Laufmittel nach ihrer ablösenden Kraft geordnet sind: Petroläther < Benzol < Äther, Chloroform, Aceton < Methanol, Aethanol < Essigester.

Ein Zusatz von Essigsäure (5 Vol.%) zu solchen Lösungsmitteln erhöht das Eluiervermögen stark; allerdings wird die Rei-

henfolge der Solventien durch den Zusatz auch etwas geändert, und zwar im Sinne steigender Dielektrizitätskonstanten (s. S. 42):
Äther < Essigester < Aceton, Aethanol, Methanol.

Es ist bemerkenswert, daß Essigester in der Reihe der neutralen Stoffe am stärksten ablöst, daß seine Wirkung aber durch Zusatz von Säure nicht in demselben Maße steigt wie bei den Alkoholen. Es war zu klären, welche von den aufgeführten Laufmitteln zum Eluieren der Addukte einfach ungesättigter Ester am besten geeignet sind, d. h. solche zu finden, deren Eluiervermögen ausreicht, um bestimmte Monoaddukte eben sicher abzulösen, ohne so stark zu sein, daß andere eventuell vorhandene, fester auf dem Gel haftende Addukte (Monoaddukte besonderer Art, Diaddukte usw.) mit abgezogen werden. So wurden die Addukte der einfach-ungesättigten, geradzahligen Fettsäuremethylester der Kettenlänger C_{10} bis C_{22} hergestellt, in benzolischer Lösung auf eine Kieselgelsäule gebracht und mit verschiedenen Lösungsmitteln eluiert. Von diesen schieden einerseits solche aus, welche Addukte nicht eluieren (Petroläther, Benzol), und andererseits solche, die jedes Addukt ablösen (Aceton, Aethanol, Methanol, jeweils mit Zusatz von 5 Vol.% Essigsäure). Die Ergebnisse der Versuche sind in Tab. 3 aufgeführt.

Tabelle 3

Fettsäure-methylester-mono-Addukt	Elutionsmittel			
Kettenlänge	Aether	Essigester	Aether/ Essigsäure	Essigester/ Essigsäure
C_{10}	-	-	+	++
C_{12}	-	+	++	++
C_{14}	(+)	+	++	++
C_{16}	+	++	++	++
C_{18}	+	++	++	++
C_{20}	+	++	++	++
C_{22}	+	++	++	++

\+ wird teilweise eluiert
++ wird vollständig eluiert

Während sich die Monoaddukte der Fettsäuremethylester mit den Kettenlängen C_{16} bis C_{22} einander ähnlich verhalten, ist mit abnehmender Kohlenstoffzahl eine deutliche Zunahme der Haftfestigkeit zu bemerken. Das Monoaddukt des Decensäuremethylesters ist etwa so fest wie das Diaddukt des Linolsäuremethylester gebunden (vgl. S.42).

Diese Steigerung der Haftfestigkeit ist verständlich, wenn man bedenkt, daß der Einfluß der haftenden Methoxymerkuri-Gruppe mit abnehmender Kohlenstoffzahl der Kette wachsen muß. Außerdem scheint der hier untersuchte Δ9-Decensäureester auch wegen der Vinyl-Gruppierung eine besondere Stellung einzunehmen; nach einer mündlichen Mitteilung von Herrn W. Roth läßt sich das Addukt des Δ15-Hexadecensäuremethylesters wesentlich schwerer eluieren, als das des Δ9- oder des Δ7-Hexadecensäuremethylesters. Bei der praktischen Anwendung der Trennung über Quecksilberaddukte sollte man wegen der Abhängigkeit des Haftens von der Kettenlänge nach Möglichkeit von Gemischen einheitlicher oder doch nicht sehr unterschiedlicher Kohlenstoffzahl ausgehen. Sonst besteht die Gefahr verwaschener Übergänge zwischen den Fraktionen verschiedenen Sättigungsgrades. Eine Ausnahme bildet der Fall, in dem nur die gesättigten von den gesamten ungesättigten Estern abgeschieden werden sollen.

V. Trennung von Linol- und Linolensäuremethylester

In seiner Dissertation hat Andreas (19) gezeigt, daß es möglich ist, die Addukte von Linol- und Linolensäuremethylester auf Grund ihrer verschieden starken Adsorption an Kieselgel chromatographisch zu trennen. Er eluiert das Diaddukt mit einem Gemisch von n-Butanol und Acetessigester (1 : 1) und erreicht, da dieses Lösungsmittelgemisch nur wenig Triaddukt desorbiert, eine gute Trennung. Der Unterschied in der Haftfestigkeit ist natürlich bei Di- und Triaddukten viel geringer, als bei Mono- und Diaddukten oder gar gesättigten Estern und Monoaddukten. Dementsprechend ist die Grenze zwischen den Fraktionen beim Eluieren unschärfer als zwischen denen der niederen Addukte. Man ist daher gezwungen, Zwischenfraktionen abzunehmen, die allerdings verhältnismäßig klein gehalten werden können (5 % der Gesamtmenge), wenn Dien und Trien in etwa gleicher Menge vorliegen. Überwiegt aber einer der beiden Sättigungsgrade stark, so müssen größere Zwischenfraktionen (bis 20 %) in Kauf genommen werden. Das genannte Laufmittelgemisch hat auch noch andere Nachteile. Die Siedepunkte von n-Butanol ($Sdp._{20}$ 41,5° C) und Acetessigester ($Sdp._{20}$ 81,1° C) liegen verhältnismäßig hoch, so daß man beim Eindampfen im Vakuum schließlich ein siedendes Wasserbad verwenden muß; dabei werden die Addukte in unerwünschter Weise thermisch beansprucht, besonders dann, wenn die Operation wegen größerer Mengen länger dauert. Außerdem ist der Acetessigester an sich bei solchen Temperaturen nur bedingt beständig; durch intermolekulare Kondensation bilden sich bekanntlich leicht Dehydracetsäure und ihre Folgeprodukte. Solche Stoffe sind wohl die Ursache, wenn bei der chromatographischen Trennung von Dien und Trien mitunter Zwischenläufe erhalten wurden, die eine viel zu niedrige Jodzahl aufwiesen.

a) Vorversuche

Eigene Versuche, das Eluieren der Diaddukte mit Lösungsmitteln wie Nitromethan, Alkoholen und Estern zu bewirken, schlugen fehl. Hier bestätigte sich die Erfahrung von H. Andreas, daß Diaddukte nur durch saure Lösungsmittel eluiert

werden. Es kam offenbar darauf an, ein Laufmittel zu finden, das bestimmte mäßig saure Eigenschaften besaß, die gerade genügten, um die Addukte der Diene abzulösen, aber nicht ausreichten, um die der Triene zu eluieren.

Die Dissoziationskonstante des für die Trennung brauchbaren Acetessigesters beträgt $2 \cdot 10^{-11}$ bei 25° C (27), ist also viel kleiner als die der Essigsäure ($1{,}86 \cdot 10^{-5}$ bei 25° C) oder anderer Carbonsäuren, deren Dissoziationskonstanten durchweg um 10^{-5} oder höher liegen. Die Auswahl an Stoffen, deren saure Eigenschaften zwischen denen des Acetessigesters und der Essigsäure stehen, ist gering, wenn auch die folgenden Bedingungen noch erfüllt sein müssen:
Chemische Beständigkeit speziell gegen Addukte, Löslichkeit im Laufmittel, leichtes Abtrennen von den Addukten und Zugänglichkeit. Für die Versuche wurden schließlich Phenol (Diss.-Konst. $1{,}3 \cdot 10^{-10}$), p-Chlorphenol ($4{,}1 \cdot 10^{-10}$), Tribromphenol (ca. 10^{-8}), 4-Nitrophenol ($7{,}0 \cdot 10^{-8}$), 2,4-Dinitrophenol ($8 \cdot 10^{-5}$), Trimethylessigsäure ($9{,}8 \cdot 10^{-6}$) und Dimethylaminoessigsäure ($1{,}3 \cdot 10^{-10}$) herangezogen. Auf eine Säule (2,5 g Kieselgel) wurden 100 mg des Addukts von α-Linolensäuremethylester gegeben und mit 5 %igen Lösungen der genannten Säuren in verschiedenen Lösungsmitteln, vorzugsweise Methanol, gewaschen. Die Elute versetzte man mit alkoholischer Diphenylcarbazon-Lösung. Die Reaktion war in allen Fällen entweder negativ oder nur schwach, auffallenderweise auch bei Verwendung der Stoffe, die der stark ablösenden Essigsäure in der Dissoziationskonstanten fast gleichen, wie Trimethylessigsäure, oder sie sogar übertreffen, wie Dinitrophenol. Auch gesättigte Lösungen von Kohlendioxyd oder Benzoesäure in Methanol versagten.

Nach dem Scheitern der Versuche, die zu stark wirkende Essigsäure in Methanol durch eine schwächere Säure zu ersetzen, untersuchte ich die Möglichkeit, die Acidität der Essigsäure durch die Wahl anderer Lösungsmittel zurückzudrängen.

Als Maß für die Stärke von Säuren in nicht wässerigen Lösungsmitteln versuchte ich zunächst, die "relative Acidität" nach A. Müller (28) zu benutzen. Der Begriff der "relativen

Acidität" geht davon aus, daß eine gelöste Säure umso stärker ist, je mehr Lösungsmittel das aus ihr und einer Indikatorbase gebildete Salz zur Spaltung benötigt. Zur Bestimmung der "relativen Acidität" wird so verfahren, daß man zu einer Lösung des Standardindikators Dimethylgelb und der Säure so lange Lösungsmittel hinzugibt, bis der Farbumschlag eintritt. Die "relative Acidität" ist das Verhältnis

$$\frac{\text{Mol Lösungsmittel}}{\text{Mol Säure}} \quad \text{beim Umschlagspunkt.}$$

Für eine Lösung von Essigsäure in verschiedenen organischen Flüssigkeiten erhielt A. Müller (28) die in der Tabelle 4 angeführten Vergleichswerte.

Tabelle 4
Relative Acidität der Essigsäure

in Essigester	0.3
Aceton	0.5
Äther	0.6
Benzol	0.6
Pentan	0.7
iso-Amylalkohol	0.8
Chloroform	0.9
Benzylalkohol	2.4
Aethanol	2.8
Methanol	3.8

Die Tabelle zeigt große Unterschiede in der Acidität der Essigsäure in Abhängigkeit vom Lösungsmittel. Man durfte also hoffen, die sauren Eigenschaften der Essigsäure durch geeignete Wahl des Laufmittels auf die für die Trennung von Dien- und Trien-Addukten notwendige Größe einstellen zu können.

5 %ige Lösungen von Essigsäure in verschiedenen Lösungsmitteln wurden durch Kieselgelsäulen (2,5 g) gegeben, die mit je 100 mg Linol- bzw. Linolensäuremethylester-Addukt beladen waren. Wenn in der Laufmittelfront Quecksilber nachzuweisen war, wurde so lange eluiert, bis das Lösungsmittel quecksilber-

frei war; dazu genügten stets 10 - 20 ml. Danach wurde mit Methanol/Eisessig geprüft, ob noch Addukt auf der Säule verblieben war. Es ergab sich folgendes Bild:

Tabelle 5

Laufmittel + 5 % Essigsäure	Diaddukt	Triaddukt	Dielektrizitätskonstante des Laufmittels 20°C
i-Oktan	-	-	1.96
Benzol	(+)	-	2.28
Aether	(+)	-	4.34
Chloroform	+	-	5.05
Essigester	(++)	(+)	6.4
n-Butanol	++	+	7.8
Benzylalkohol	++	++	13.0
i-Propanol	++	++	15.7
Aceton	++	++	21.4
Aethanol	++	++	25.8
Methanol	++	++	33.1

Es wird eluiert: (+) in Spuren + teilweise
(++) fast vollständig ++ vollständig

Die Lösungsmittel der Tabelle 5 sind in der Reihenfolge ihrer Wirksamkeit bei der Desorption der Di- und Triaddukte geordnet. Dabei ist allerdings die Anordnung der fünf zuletzt aufgeführten Stoffe untereinander eine willkürliche, da sie alle Addukte vollständig eluieren. Ein Vergleich mit der Reihenfolge der Lösungsmittel in Tabelle 4 läßt wohl erkennen, daß Methanol, Aethanol und Benzylalkohol, in denen Essigsäure eine hohe relative Acidität besitzt, am stärksten desorbieren, daß jedoch die Reihenfolge der übrigen Laufmittel in beiden Tabellen völlig verschieden ist.

Die "relative Acidität", die durch die Solvolyse eines Indikatorsalzes gemessen wird, gibt also keinen rechten Maßstab für die Wirkung der Essigsäure bei der Trennung von Quecksilber-Addukten. Dagegen erkennt man aus der letzten Spalte

der Tabelle 5, daß die Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels und der eluierende Effekt gleich laufen. Diese Konstante scheint also hier ein geeigneterer Maßstab zu sein.

Nach den Ergebnissen der Tabelle 5 schien es möglich, das Diaddukt des Linolsäuremethylesters mit einem Gemisch von Essigester und Essigsäure (95 : 5) zu eluieren, ohne dabei das Triaddukt des Linolsäuremethylesters in merklichen Mengen abzulösen. Ein orientierender Versuch, bei dem gleiche Mengen Di- und Triaddukt auf eine Kieselgelsäule gebracht worden waren und das Diaddukt mit Essigester/Essigsäure, das Triaddukt mit Methanol/Eisessig eluiert wurden, ergab nach der Aufarbeitung der beiden Fraktionen:

1. JZ 175,3 (Linolsäuremethylester JZ 172,4)
2. JZ 255,5 (Linolensäuremethylester JZ 260,4)

Dieses Ergebnis ermutigte zu eingehenderen Versuchen.

b) Versuche mit Testgemischen

250 mg cis-Linol- und 250 mg cis-Linolensäuremethylester wurden mit 2,7 g Quecksilberacetat und 70 ml Methanol (borfluorid-haltig) umgesetzt und am nächsten Tage, nach der Reinigung mit Hilfe des Ionenaustauschers, auf 35 g Kieselgel gebracht. Mit Essigester/Essigsäure (95 : 5) wurde nun gewaschen und die Quecksilber-Reaktion des Eluts geprüft. In der Front des Laufmittels war der Quecksilber-Nachweis sofort sehr deutlich, die Quecksilber-Konzentration (und damit die Diadduktkonzentration) nahm nach einiger Zeit merklich ab und erreichte ein Minimum, nachdem etwa 175 ml Laufmittel (ca. das 2,5fache des Säulenvolumens[1]) die Säule passiert hatten. Während des Laufes von weiteren 175 ml Lösungsmittel wurde der Quecksilbernachweis wieder etwas deutlicher, blieb aber schwach. Diese Erscheinung deutete darauf hin, daß bereits etwas Triaddukt eluiert wurde. Deshalb wechselte man das Laufmittel und zog den Rest der Substanzen mit dem Gemisch Methanol/Eisessig aus.

---

[1] Unter Säulenvolumen (abgek. SV) wird das Volumen der in der Gelschicht vorhandenen Flüssigkeit bezeichnet. Für das hier verwendete Kieselgel galt:

Säulenvolumen = Kieselgelmenge in Gramm mal 2

Die regenerierten Ester zeigten folgende Jodzahlen.

		Jodzahl ber.	gef.
1. Fraktion	227 mg	172,4	176,1
2. Fraktion	225 mg	260,4	256,4

Nach den Jodzahlen zu urteilen, war das Diaddukt beim Fraktionswechsel noch nicht vollständig eluiert, obwohl mit der 1. Fraktion schon etwas Triaddukt gekommen war. Daher wurde nach Möglichkeiten gesucht, die Desorption des Diaddukts zu beschleunigen und zu vervollkommnen. Bei Versuchen mit Gemischen von Essigester und n-Butanol (+ 5 % Essigsäure) wurde das Diaddukt zwar besser ausgewaschen, es liefen aber auch größere Mengen Triaddukt mit.

Ließ man jedoch vor dem Eluieren des Diaddukts mit Essigester/Essigsäure ein Säulenvolumen Aether/Essigsäure (95 : 5) durch das Gel laufen, d. h. belud man die Säule vor dem Waschen mit dem wirksamen Lösungsmittel mit Essigsäure, so lief die Desorption des Diaddukts schneller und vollständiger, ohne daß die Ablösung des Triaddukts beschleunigt wurde.

	Eluiert mit	Ausbeute	Jodzahl ber.	gef.
1 2,5	SV Aether/Eisessig SV Essigester/Eisessig	230 mg	172,4	173,5
2	SV Methanol/Eisessig	225 mg	260,4	259,0

Bei diesem Versuch wurden die Addukte von je 250 mg cis-Linolsäure- und Linolensäure-Methylester in Benzol auf die Kieselgelsäule gebracht. Da bei späteren Untersuchungen mit Gemischen aus gesättigten Estern, Monoenen, Dienen und Trienen gearbeitet werden sollte, wurde zuerst, um schon hier möglichst ähnliche Verhältnisse in der Säule zu schaffen, vorweg mit Benzol und Aether eluiert und erst dann mit den sauren Laufmitteln. Ebenso wurde bei den folgenden Versuchen verfahren.

Auch Gemische von α-Linol- und α-Linolensäuremethylester (je 250 mg) ließen sich gut trennen, allerdings war hier der Übergang zwischen den beiden Fraktionen weniger scharf, so daß eine

kleine Zwischenfraktion (6,6 % der Gesamtmenge) entnommen werden mußte.

Eluiert mit	Ausbeute	Jodzahl ber.	Jodzahl gef.
1 SV Aether/Eisessig 2,5SV Essigester/Eisessig	205 mg	172,4	173,8
1 SV Essigester/Eisessig	33 mg		193,2
2 SV Methanol/Eisessig	219 mg	260,4	258,1

Die Jodzahlen der beiden Hauptfraktionen wichen zwar nur wenig von den theoretischen Werten ab, zeigten aber, daß der Linolsäuremethylester noch mit etwa 2 % Linolensäuremethylester und umgekehrt der Linolensäuremethylester mit Linolsäuremethylester verunreinigt waren. Nahm man die Zwischenfraktion größer (15 % der Gesamtmenge), so ließ sich die Trennung noch schärfer durchführen, wie sich aus der folgenden Aufstellung ergibt. Eingesetzt wurden wiederum ein Gemisch aus je 250 mg α-Linol- und α-Linolensäuremethylester.

Fraktion	Eluiert mit	Ausbeute	Jodzahl ber.	Jodzahl gef.
1	1 SV Aether/Eisessig 1,5 SV Essigester/Eisessig	185 mg	172,4	172,8
2	3 SV Essigester/Eisessig	75 mg		210,3
3	2 SV Methanol/Eisessig	201 mg	260,4	259,9

Wie die Gaschromatogramme der 1. und 3. Fraktion zeigten, lagen hier reinere Substanzen vor, als sie in die Trennung eingesetzt waren, denn die in den α-Präparaten enthaltenen, reduktiv entstandenen kleinen Mengen an Estern der Stearinsäure und einfach ungesättigter Säuren waren durch die Vorbehandlung auf der Säule mit Benzol und Aether entfernt und die Trennung des Diens vom Trien war fast vollkommen.

Wie es scheint, ist die Güte der Trennung allerdings auch an die Schnelligkeit des Arbeitens gebunden. Die hohen Addukte, insbesondere die Triaddukte, sind nicht sehr stabil, sondern neigen zur Rückspaltung. Dies Bestreben zeigt sich bei der Titration mit Komplexonat (s. S. 14) oder beim Stehen in schwach sauren wässerigen Lösungen (s. S. 25). Die Gefahr einer solchen

Rückspaltung ist wohl auch bei der Trennung der Addukte vorhanden, und zwar von dem Zeitpunkt der Beseitigung des überschüssigen Quecksilberacetats an. Es empfiehlt sich also zumindest von diesem Moment an zügig zu arbeiten.

Da beabsichtigt war, die Trennmethode an nativen C_{18}-Fettsäuremethylester-Gemischen zu erproben, wurde noch ein Versuch mit einem Gemisch aus je 250 mg Stearin-, Oel-, cis-Linol- und cis-Linolensäuremethylester durchgeführt. Das Gemisch wurde über Nacht in 100 ml Methanol (borfluorid-haltig) mit 3,2 g Quecksilberacetat umgesetzt, über Ionenaustauscher gereinigt und auf 45 g Kieselgel gebracht.

Fraktion	Eluiert mit	Ausbeute in mg	Jodzahl ber.	Jodzahl gef.
1	1 SV Benzol	240	0	12,7
2	2,5 SV Aether	221	85,6	85,1
3	1 SV Aether/Eisessig u. 2,5 SV Essigester/Eisessig	228	172,4	171,2
4	2 SV Methanol/Eisessig	225	260,4	259,3

Bemerkenswert ist, daß das Addukt des Oelsäuremethylesters durch Aether praktisch vollständig ausgewaschen wurde, obwohl Versuche (S.37) ergeben hatten, daß Aether nur ca. 30 - 50 % des Addukts desorbiert. Bei jenem Versuch wurde das Addukt des Oelsäuremethylesters aber allein auf die Kieselgelsäule gegeben. Hier dagegen waren höhere Addukte (Di- und Triaddukte) anwesend, die offenbar die letzten Anteile des Monoaddukts von dem Gel verdrängt haben. Die gleiche Erscheinung kann man auch beim Diaddukt beobachten. Befindet sich Diaddukt allein auf der Kieselgelsäule, so werden durch das Gemisch Essigester/Essigsäure (auch nach vorherigem Waschen mit Aether/Eisessig) nur etwa 80 bis 90 % eluiert. Den Rest kann man auch durch größere Mengen dieses Laufmittels nicht entfernen. Ist dagegen zugleich das Triaddukt adsorbiert, so gelingt es, das Diaddukt praktisch vollständig mit Essigester/Eisessig aus der Säule zu waschen.

Diese Erscheinung läßt sich erklären, wenn man annimmt, daß ein Addukt vom Kieselgel nicht gleichmäßig adsorbiert wird, sondern daß im Gel Adsorptionszentren verschiedener Stärke wirksam sind. Von den stärkeren läßt sich ein Addukt nur ablösen, wenn man es entweder durch ein höheres Addukt verdrängt oder es mit einem sehr kräftigen Laufmittel behandelt.

Diese Überlegung wird dadurch gestützt, daß sich beispielsweise das Monoaddukt von einer Kieselgelsäule, auf die ein gleichteiliges Gemisch von Mono- und Diaddukt aufgetragen wurde, mit Aether vollständig eluieren läßt, der Anteil des mit Aether nicht eluierbaren Monoadduкts aber in dem Maße ansteigt, wie der Gehalt des Diadduкts im Gemisch abnimmt.

c) Trennung von nativen Gemischen

1. Methylester der Leinoelfettsäure

2 g der C_{18}-Fraktion aus den Methylestern von Leinoelsäuren (JZ 188) wurden über Nacht mit 10 g Quecksilberacetat in 250 ml borfluorid-haltigem Methanol umgesetzt. Die Reaktionslösung ließ man zur Reinigung durch eine Säule mit 150 g Dowex 2X8 laufen, dampfte ein und nahm den Rückstand in 50 ml Benzol auf. Die Lösung wurde auf eine Säule mit 65 g Kieselgel gegeben. Nach dem Waschen mit 130 ml Benzol (1. Fraktion) wurde eluiert mit 250 ml Aether (2. Fraktion), 130 ml Aether/Eisessig und 350 ml Essigester/Eisessig (3. Fraktion) und 250 ml Methanol/Eisessig (4. Fraktion). Nach dem Regenerieren der Ester ergaben sich folgende Ausbeuten und Jodzahlen:

Fraktionen	Ausbeute	Jodzahl ber.	Jodzahl gef.
1	0,12 g = 6 %	0	10,0
2	0,44 g = 22 %	85,6	85,5
3	0,38 g = 19 %	172,4	171,0
4	0,98 g = 49 %	260,4	260,0
	96 %		

Die Methode hatte also auch bei nativen Gemischen Erfolg und sollte nun auf größere Mengen angewendet werden.

11 g der C_{18}-Fraktion aus den Methylestern von Leinoelsäuren wurden in 1 l Methanol gelöst und mit 50 g Quecksilberacetat versetzt. Auf die Verwendung des Katalysators wurde verzichtet, weil wegen der Vorbehandlung und Regeneration der erforderlichen großen Mengen an Ionenaustauscher kein Zeitgewinn zu erwarten war. Nach 2 Tagen wurde die Lösung im Vakuum mit einer Badtemperatur von 30° C eingedampft, der Rückstand in 250 ml Benzol gelöst und vom überschüssigen Quecksilberacetat abfiltriert. Die Lösung wurde noch 2 mal mit 100 ml Benzol im Vakuum eingedampft und schließlich in 250 ml Benzol gelöst auf die Kieselgelsäule gegeben.

Bei großen Mengen wählt man die Form der Säule am besten so, daß sich keine zu großen Schütthöhen ergeben. Es hat sich bewährt, wenn die Schütthöhe etwa das 10fache des Säulendurchmessers beträgt. Bei engen Säulen genügt es, das Kieselgel auf einen Wattepfropf zu schütten. Für Durchmesser über 1 cm ist es besser, Säulen mit einer eingeschmolzenen Glasfritte (z. B. 93 G 1 mit Hahn von Schott u. Gen., Mainz) zu benutzen, um ein gleichmäßiges Durchlaufen der Lösungsmittel zu gewährleisten.

Es wurde eine Säule mit 4 cm Durchmesser benutzt, die mit 250 g Kieselgel gefüllt war. (Die übliche Kieselgelmenge konnte hier unterschritten werden, da die Substanz zur Hälfte aus Linolensäuremethylester bestand, der zur Adsorption relativ wenig Kieselgel benötigt (19)).

Fraktion	Eluiert mit	Ausbeute g	Ausbeute %	Jodzahl ber.	Jodzahl gef.
1	1 SV Benzol	1,00	9	0	13,5
2	1 SV Aether	2,60	24	85,6	85,5
3	1 SV Aether/Eisessig u. 2 SV Essigester/Eisessig	1,75	16	172,4	170,6
4	1 SV Essigester/Eisessig	0,55	5	-	176,0
5	1 SV Methanol/Eisessig	4,85	44	260,4	256,0
			98 %		

Die Jodzahl der 1. Fraktion war aus den auf Seite 31 erläuterten Gründen zu hoch. Eine Wiederholung der Trennung nach dem früher geschilderten Verfahren (s. S. 33) lieferte reinen Stearinsäuremethylester, JZ 0,1.

Der Oelsäuremethylester (Fraktion 2) war nach der Jodzahl und dem Gaschromatogramm frei von Verunreinigungen.

Dagegen erwies sich die Fraktion 3, die nur Diene enthalten sollte, auf Grund der Jodzahl und des Gaschromatogramms als nicht ganz einheitlich. Durch Wiederholung der Trennung stieg die Jodzahl auf 173,1; das Gaschromatogramm (Abb. 1) zeigte dann nur noch Spuren von Monoenen und ein wenig Trien an.

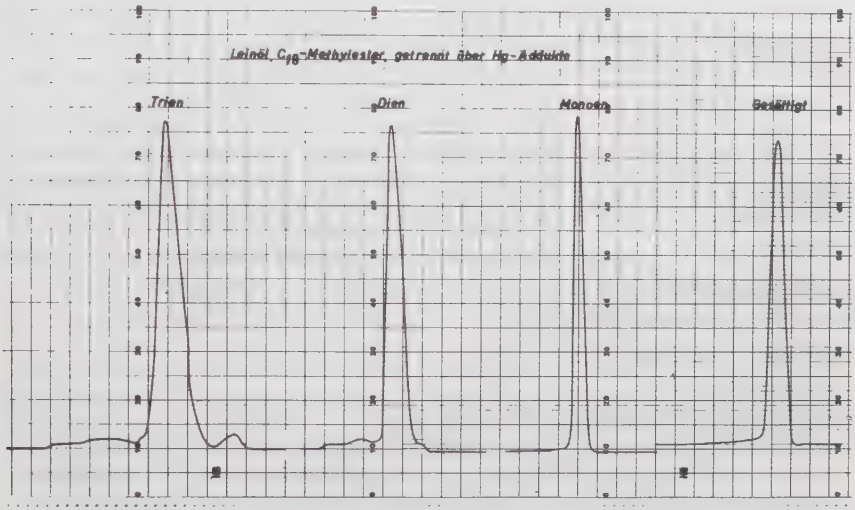


Abbildung 1

Auch die Fraktion 5 mußte noch einmal in das Addukt verwandelt und chromatographisch behandelt werden. Der regenerierte Ester zeigte dann eine fast theoretische Jodzahl (260,0 statt 260,4) und enthielt nach dem Gaschromatogramm (Abb. 1) nur noch kleine Mengen Dien, daneben aber auch etwas eines Stoffes, der nach der Lage der Spitze im Diagramm als Tetraen anzusehen war.

Im Ganzen betrachtet, war die Trennung in diesem mit großen Mengen durchgeführten Versuch schlechter als im vorangegangenen.

Ein Grund für diese Erscheinung lag wohl darin, daß der Effekt chromatographischer Säulen mit zunehmendem Durchmesser zurückgeht, vielleicht hatten auch die wegen der Mengen längeren Arbeitszeiten geringe Rückspaltungen der höheren Addukte bewirkt. Im übrigen pflegen bei der Trennung natürlicher Fettsäuregemische die Grenzen der großen Fraktionen stets etwas unscharf zu sein, und zwar nicht nur beim Arbeiten mit Quecksilberaddukten, sondern auch bei Destillationen oder der gaschromatographischen Analyse. Die natürlichen Fette enthalten Nebenbestandteile, die durch die Fraktionierung an den Schnittgrenzen der Hauptkomponenten angereichert und dann merklich werden. Zwei solcher Stoffe sind in dem Gaschromatogramm (Abb. 1) als flache Zacken, die unmittelbar denen des Diens bzw. Triens folgen, zu erkennen; vielleicht handelt es sich um Isomere mit besonderer Stellung der Doppelbindung.

Nach den im hiesigen Institut bisher vorliegenden allgemeinen Feststellungen über die ungesättigten Fettsäuren aus pflanzlichen Oelen bestehen sie alle aus Gemischen von Isomeren, die sich durch verschiedene Lage der Doppelbindungen unterscheiden. Dafür, daß dies auch für das Leinoel gilt, spricht die nicht vollkommene Symmetrie der Zacken für das Dien und das Trien im Gaschromatogramm (Abb. 1).

2. Methylester der Hanfoelfettsäure

6,0 g der C_{18}-Fraktion aus den Methylestern der Hanfoelsäuren wurden in der üblichen Weise mit Quecksilberacetat umgesetzt und die Addukte auf die Kieselgelsäule gegeben. Durch Eluieren konnten gewonnen werden:

Fraktion	Eluiert mit	Ausbeute	%	Jodzahl ber.	Jodzahl gef.
1	1 SV Benzol	60 mg	1	0	6,1
2	2 SV Aether	0,9 g	15	85,6	87,0
3	1 SV Aether/Eisessig u. 2 SV Essigester/Eisessig	3,5 g	58	172,4	171,5
4	1 SV Essigester/Eisessig	0,4 g	7	-	213,0
5	2 SV Methanol/Eisessig	1,0 g	17	260,4	262,0
			98 %		

Der Trenneffekt entsprach etwa dem mit Leinoelfettsäuren festgestellten. Wegen der etwas zu hohen Jodzahl der Fraktion 2 wurde hier der Trennungsgang wiederholt; das Präparat zeigte dann JZ 85,8. Die Jodzahl der 5. Fraktion war auffallenderweise etwas höher, als dem Methylester eines Triens entsprach; das Gaschromatogramm wies auf einen kleinen Gehalt an Tetraen hin.

3. Methylester der Rüboelfettsäure

In der gleichen Weise wurden 2 g der C_{18}-Fraktion aus den Methylestern der Rüboelsäuren getrennt.

Fraktion	Eluiert mit	Ausbeute g	Ausbeute %	Jodzahl ber.	Jodzahl gef.
1	1 SV Benzol	0,0	-	-	-
2	2 SV Aether	0,80	40	85,6	86,2
3	1 SV Aether/ Eisessig u. 2 SV Essigester/ Eisessig	0,65	33	172,4	173,5
4	2 SV Methanol/ Eisessig	0,40	20	260,4	259,0
			93 %		

Die Jodzahlen der erhaltenen Fraktionen kamen den theoretischen nahe. Dieses gute Ergebnis hing wohl damit zusammen, daß die eingesetzte Menge kleiner war.

d) Trennung von Dienen und Trienen der Kettenlänge C_{16}

Um zu prüfen, ob sich das Verfahren der Dien/Trien-Trennung auch auf C_{16}-Fettsäuremethylester anwenden ließ, benutzte ich eine hoch ungesättigte C_{16}-Fraktion aus den Methylestern des Rüboels, die keine gesättigten und einfach-ungesättigten Ester mehr enthielt. Nach dem Gaschromatogramm bestand die Substanz aus etwa gleichen Teilen Dien und Trien. Die Chromatographie der Addukte durch eine Kieselgelsäule lieferte folgende Fraktionen:

Eluiert mit	Ausbeute g	Ausbeute %	Jodzahl ber.	Jodzahl gef.
1 SV Aether/ Eisessig u. 2 SV Essigester/ Eisessig	0,17	34	190,6	188,9
2 SV Essigester/ Eisessig	0,06	12	-	200,1
2 SV Methanol/ Eisessig	0,25	50	288,0	285,7
		96 %		

Damit war sichergestellt, daß sich auf diese Weise auch das Dien und Trien der C_{16}-Fettsäuremethylester trennen lassen. Die Addukte haften allerdings entsprechend der geringeren Kettenlänge etwas fester auf dem Gel. Deshalb ist in dem hier untersuchten Beispiel die Zwischenfraktion etwas größer als gewöhnlich gewählt, rückschauend trotzdem nicht groß genug, denn ihre Jodzahl liegt noch nahe an der des Diens und die des Triens etwas tiefer als die theoretische.

e) Das Verhalten von Di- und Triaddukten der Fettsäuremethylester bei der chromatographischen Trennung

Für die chromatographische Trennung der Addukte der Diene von denen der Triene bewährt sich das neue Laufmittel Essigester/Essigsäure gut. Verglichen mit dem von H. Andreas (19) vorgeschlagenen Gemisch Butanol/Acetessigester hat es die Vorzüge niedrigeren Siedepunktes, größerer chemischer Beständigkeit und besseren Trennvermögens. Seine selektiven Eigenschaften für das Eluieren der Diene kommen noch stärker zur Geltung, wenn die Addukte auf der Säule zuvor mit dem Gemisch Aether/ Essigsäure behandelt werden. Die besten Trenneffekte erhält man bei Einsatz von Mengen bis zu 1 g Fettsäureester, weil einerseits enge Säulen besser fraktionieren als weite und wohl auch weil kleinere Mengen schnelleres Arbeiten erlauben. Jedoch lassen sich auch mit Einsätzen von 10 g und darüber gute Scheidungen erreichen, wenn man kleine Zwischenläufe in Kauf nimmt oder die hoch angereicherten Fraktionen einem zusätzlichen Trennungsgang unterwirft.

Das Verfahren ist in erster Linie an Estern der C_{18}-Fettsäuren erprobt, weil diese in den natürlichen Fetten eine Vorzugsstellung einnehmen und dementsprechend am leichtesten zugänglich sind. Wahrscheinlich wird es sich ohne weiteres auch auf Ketten der Länge C_{20} und C_{22} übertragen lassen, so wie es sich erwiesenermaßen für die C_{16}-Homologen eignet. Für noch größere oder kleinere Moleküle wird man möglicherweise die eluierende Kraft des Laufmittels abschwächen oder verstärken müssen, also z. B. nach der Tabelle 5 (s. S. 43) Aether bzw. n-Butanol an die Stelle des Essigesters setzen. Im übrigen wird bei der Untersuchung von natürlichen Fetten eine Dien-Trien-Trennung unterhalb der Kettenlänge C_{16} selten erforderlich sein, weil dreifach ungesättigte Säuren solcher Molekülgrößen kaum vorkommen dürften.

Es sei hier nochmals bemerkt, daß auch die mehrfach ungesättigten Säuren bei der Trennung mit Quecksilberadduckten praktisch keine cis-trans-Isomerisierung erleiden.

P R A K T I S C H E R T E I L

I. Zusammenfassung der Arbeitsvorschriften

a) Darstellung der Addukte

Ohne Katalysator: Das Gemisch der zu trennenden Fettsäuremethylester, dessen Jodzahl bekannt sein muß, wird mit a g Quecksilber(II)-acetat (rein, Merck) je Gramm Substanz und a·25 ml Methanol versetzt, bis zum vollständigen Lösen geschüttelt und verschlossen im Dunkeln aufbewahrt.

$$a = \frac{JZ \cdot 2,5}{100}$$

Die Reaktion ist nach folgenden Zeiten beendet:

Einfach-ungesättigte cis-Ester	über Nacht
Einfach-ungesättigte trans-Ester	nach einem Tag
Zweifach-ungesättigte Ester	nach einem Tag
Dreifach-ungesättigte Ester	nach zwei Tagen

Die Reaktionslösung wird im Vakuum bei maximal 30 bis 35° C Badtemperatur eingedampft. Den Rückstand nimmt man in Benzol auf (etwa a·15 ml), filtriert das ungelöste, überschüssige Quecksilberacetat ab und entfernt das Lösungsmittel wieder im Vakuum bei maximal 30 bis 35° C Badtemperatur. Die Addukte bleiben als eine klare, zähe Flüssigkeit zurück, werden in dem 25fachen Volumen Benzol gelöst und auf die Kieselgelsäule gebracht.(Sollte der Rückstand noch deutlich nach Essigsäure riechen, so wird nochmals Benzol zugesetzt und eingedampft.)

Mit Katalysator: Um den Umsatz zu beschleunigen, versetzt man das Methanol mit 0,7% Bortrifluoridätherat und gibt zu dieser Lösung den Ester und das Quecksilberacetat. Methanolische Lösungen von Borfluoridätherat sind in Polyäthylenflaschen längere Zeit haltbar.

Die Adduktbildung der Monoene und Diene ist zwar nach einer Stunde beendet, und selbst Triene brauchen nur ca. 5 Stunden zur vollständigen Umsetzung; es empfiehlt sich jedoch, die Reaktion über Nacht laufen zu lassen, um am nächsten Tage Aufarbeitung und Trennung ohne Unterbrechung durchführen zu können.

Reinigung durch Ionenaustauscher: Für je 50 ml Adduktlösung werden 30 g Dowex 2X8 (20-50 mesh) benötigt. Der Ionenaustauscher wird in einer Säule mit Sodalösung (5 %) gewaschen, bis der Nachweis der Chlorionen im Elut nur noch schwach ist. Dann wird so lange mit destilliertem Wasser gespült, bis das Elut neutral reagiert. Das Wasser verdrängt man mit Methanol aus der Säule (wenn Blasen auftreten, Säule umschwenken) und läßt dann die Reaktionslösung langsam hindurchlaufen. Solange der Ionenaustauscher wirkt, ist im Elut der Bornachweis negativ (Verbrennen eines Tropfens des Eluts, keine grüne Flamme). Die gereinigte Adduktlösung dampft man im Vakuum bei 30 bis 35° C Badtemperatur ein, nimmt mit der 25fachen Menge Benzol auf und gibt die Lösung auf die Kieselgelsäule.

Sollte die Adduktlösung schwach gelbstichig aus der Säule treten, so wartet man, bis sich das kolloide Quecksilberoxyd zusammengeballt hat und filtriert von der kleinen Menge ab. Das Arbeiten mit Katalysator und Ionenaustauscher bringt dann Zeitgewinn, wenn man auf die etwas umständliche Regenerierung des Austauschers verzichten kann. Mit Rücksicht auf dessen ziemlich hohen Preis eignet sich das Verfahren vorzugsweise für Ansätze mit Estermengen bis zu einigen Gramm.

Reinigen durch Verteilen: Will man nur die gesättigten von den ungesättigten Anteilen trennen, so kann man auch in großem Maßstabe vorteilhaft mit Katalysator arbeiten, weil man auf den Austauscher verzichten und die Addukte durch Verteilen zwischen Wasser und Benzol reinigen kann. In diesem Falle wird die Reaktionslösung mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und 2 bis 3 mal mit Benzol ausgezogen. Die benzolischen Lösungen werden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und auf die Kieselgelsäule gegeben. Dies Verfahren ist vor allem dann zu empfehlen, wenn kleine Anteile ungesättigter Ester von großen Mengen gesättigter zu trennen sind. Da man hier zunächst auf eine Scheidung der ungesättigten voneinander verzichtet, darf man die Regel außer acht lassen, daß nach Möglichkeit nur Fraktionen einheitlicher Kettenlänge getrennt werden sollten.

b) Trennung

Je g Fettsäuremethylester schlämmt man b g Kieselgel (für die Verteilungschromatographie, Riedel de Haen) in eine Säule ein.

$$b = \frac{JZ}{3}$$

(Besteht die Substanz zum größten Teil aus Polyenen, kann die Kieselgelmenge reduziert werden.) Die Weite der Säule wählt man so, daß die Schütthöhe ungefähr dem 10fachen Durchmesser entspricht. In engen Säulen (bis ca. 1 cm lichte Weite) kann man das Kieselgelbett unten durch Watte begrenzen. Bei größeren Durchmessern verwendet man besser eine angeschmolzene G1-Glasfritte als Abschluß oberhalb des Hahnes.

Die Adduktlösung läßt man langsam durch die Säule laufen und wäscht mit einem Säulenvolumen (SV = b·2 ml/g, also das Zweifache des Gewichts der trockenen Kieselgelmenge in ml) Benzol nach. Diese Fraktion enthält die gesättigten Anteile.

Will man die ungesättigten Ester nicht trennen, so desorbiert man ihre Addukte gemeinsam durch ein Gemisch aus Methanol und Eisessig (95 : 5 VoL), bis das Elut quecksilberfrei aus der Säule läuft. Quecksilber und Quecksilberaddukte färben Filterpapier, das man mit einer 0,1 %igen alkoholischen Diphenylcarbazon-Lösung befeuchtet hat, intensiv violett. Durch Bedampfen mit Ammoniak kann die Empfindlichkeit des Nachweises noch erhöht werden (besonders bei sauren Lösungen ratsam).

Um nur das Monoaddukt zu desorbieren, wäscht man mit Aether, bis im Elut kein Quecksilber mehr nachzuweisen ist. Zur Trennung des Diaddukts vom Triaddukt eluiert man mit 1 SV Aether/Eisessig (95 : 5 Vol.) und 2,5 SV Essigester/Eisessig (95 : 5 Vol.). Das Triaddukt wird mit Methanol/Eisessig (95:5 Vol.) desorbiert. Eine schärfere Trennung der Diene von den Trienen erreicht man durch Abnahme einer Zwischenfraktion. Das Diaddukt wird zum größten Teil mit 1,5 SV Essigester/Eisessig eluiert. Dann wäscht man den Rest des Diaddukts als Zwischenfraktion mit weiteren 3 SV Essigester/Eisessig ab, dabei wird gegen Ende auch etwas vom Triaddukt abgelöst. Die Hauptmenge des Triaddukts eluiert man wie üblich mit Methanol/Eisessig.

Um gesättigte Fraktionen, die häufig beim Trennen unrein anfallen, von den Resten der ungesättigten Fettsäuremethylester zu befreien, wird mit Quecksilberacetat umgesetzt und der Rückstand nach dem Eindampfen der Reaktionslösung in Petroläther (70/90° C) aufgenommen. Das überschüssige Quecksilberacetat filtriert man ab und gibt die Lösung auf eine Kieselgelsäule, in die je g Substanz 30 g Kieselgel mit Petroläther eingeschlämmt wurden. Aus petrolätherischer Lösung werden nicht nur die Addukte, sondern auch die gesättigten Ester durch Kieselgel adsorbiert. Eluiert man mit Benzol, so gehen nur die gesättigten Ester in Lösung.

c) Regenerierung der Ester

Die Adduktlösungen werden im Vakuum eingedampft, der Rückstand in dem 25fachen Volumen Methanol gelöst und mit 1 ml konzentrierter Salzsäure sowie 1 g Ammonrhodanid je g Addukt versetzt. Nach einer Stunde wird die Lösung mit Wasser auf das Doppelte verdünnt und mit Petroläther (30/50° C) ausgezogen. Die Auszüge wäscht man mit Wasser und trocknet. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels werden die Ester durch eine Vakuumdestillation gereinigt.

d) Regenerierung des Ionenaustauschers

Nach dem Gebrauch ist der Ionenaustauscher mit Essigsäure, Bortrifluorid und Quecksilberionen beladen. Während sich die Essigsäure und das Bortrifluorid leicht mit starken Säuren auswaschen lassen, ist es nicht möglich, auf diesem Wege die Quecksilberionen zu entfernen. Nur Ionen, die mit Quecksilber sehr starke Komplexe bilden, sind zur Regenerierung des Ionenaustauschers geeignet. Das Cyan-Ion ist sehr wirksam, aber nicht angenehm in der Verwendung, weil man sich gegen Blausäureentwicklung schützen muß. Es gelingt jedoch auch, die Quecksilberionen mit 5 %iger Kaliumjodidlösung aus dem vorweg in verdünnter Salzsäure behandelten Ionenaustauscher auszuwaschen. Leichte Verfärbungen durch Jod beseitigt man mit wenig Sulfitlösung, spült anschließend reichlich mit verdünnter Salzsäure nach und regeneriert unmittelbar vor der Wiederverwendung mit 5 %iger Soda-Lösung.

II. Darstellung der C_{18}-Fettsäuremethylester des Hanfoels

250 g frisch gequetschter Hanfsamen wurden in einem Extraktionsapparat nach Soxhlet mit einem Liter Aether ausgezogen. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels hinterblieben 74 g (= 29,6 %) eines dunkelgrünen Oels, das durch Kochen (1 Std.) mit alkoholischer Lauge (20 g NaOH, 450 ml Aethanol, 50 ml Wasser) verseift wurde. Nach dem Abkühlen und Verdünnen mit 1 l Wasser sättigte man die Lösung mit Kohlendioxyd und schüttelte dreimal mit 100 ml Petroläther aus, um unverseifbare Bestandteile, einschließlich der phenolischen, zu entfernen. Die Fettsäuren wurden mit verdünnter Schwefelsäure in Freiheit gesetzt, in Petroläther aufgenommen und nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels durch Kochen mit Methanol (+ 2 % Salzsäure) am Rückfluß verestert. Das Methanol wurde abdestilliert, die Ester in Petroläther aufgenommen, mit Sodalösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und nach dem Abtreiben des Lösungsmittels einer Vakuumdestillation unterworfen. Ausbeute: 61 g.

Aus 30 g der Methylester wurden dann in einer Ringspalt-Säule durch Destillation unter Minderdruck (bei 0,001 Torr in der Vorlage) die C_{18}-Fraktion isoliert. Es fielen an:

Fraktion	Temperatur in der Kolonne °C	Ausbeute g	
1	107 - 118	1,9	fest
2	118 - 126	3,1	flüssig
3	126	5,9	"
4	126	5,7	"
5	126	6,1	"
6	126	5,7	"
Rückstand		1,3	fest
Verlust		0,3	

Die Fraktion 1 bestand vorwiegend aus Palmitinsäuremethylester, die Fraktionen 3 bis 6 enthielten die C_{18}-Methylester[1].

[1] Die übrigen Fettsäuremethylester, die im Rahmen dieser Arbeit getrennt wurden, waren im hiesigen Institut auf ähnliche Weise gewonnen worden. Besonders danke ich den Herren W. Roth und R. Hofmann für mehrere solcher Präparate.

III. Darstellung von Bortrifluoridätherat

W. Laubengayer (29) stellt dieses Präparat durch kontinuierliches Mischen von Ätherdampf und gasförmigem Bortrifluorid her. In etwas einfacherer Weise erhält man es nach folgendem Verfahren: Ein Dreihalskolben von 250 ml Inhalt wird mit einem Einleitungsrohr für das Borfluorid, einem etwa 30 cm langen, oben zu einer Kapillare ausgezogenen Glasrohr zur Ableitung der Dämpfe und einem fast bis auf den Boden reichenden Thermometer versehen. In den Kolben gibt man 50 g absoluten Äther, kühlt in einem Eisbad und leitet Borfluorid aus einer Bombe so ein, daß die Temperatur nicht über +20° C steigt. Der vollständige Verbrauch des Äthers wird durch das Austreten überschüssigen Bortrifluorids aus der Kapillare und Nebelbildung angezeigt. Das Reaktionsprodukt reinigt man durch Destillation unter Minderdruck, $Sdp._{13}$ 47° C.
Ausbeute: 85,2 g = 89 % der Theorie, bezogen auf eingesetzten Äther.

Z U S A M M E N F A S S U N G

H. Andreas hatte in seiner Dissertation gezeigt, daß man die alte Aufgabe, Fettsäuren nach ihrem Sättigungsgrad zu trennen, mit Hilfe der Quecksilber-Addukte der ungesättigten weitgehend lösen kann. Diese für analytische und präparative Zwecke nützliche Methode zu vervollkommnen und ihre Eignung in weiten Grenzen zu prüfen, ist das Ziel der vorliegenden Arbeit. Diese Untersuchungen betreffen folgende Teilaufgaben:

1.) Die Bildung von Addukten aus den Methylestern ungesättigter Fettsäuren und Quecksilber(II)-acetat verläuft relativ langsam, insbesondere fordern Polyene beträchtliche Reaktionszeiten bis zu zwei Tagen. Solche Zeiten sind nicht nur unbequem, sondern können auch langsam laufende Nebenreaktionen begünstigen. In dieser Arbeit wird gezeigt, daß man die Umsetzungen durch Bortrifluorid etwa 10fach beschleunigen kann, ohne die Ester chemisch zu schädigen. Aus den Reaktionslösungen läßt sich das Borfluorid nach zwei Verfahren leicht abtrennen, entweder mit einem in bestimmter Weise präparierten, stark basischen Ionenaustauscher oder durch einen Verteilungsprozeß zwischen Wasser und Benzol. Der erste Weg ist vorzuziehen, wenn man mit kleinen Mengen arbeitet; der zweite dient besonders zur schnellen Anreicherung geringer Anteile von Ungesättigten in unbegrenztem Maßstab. Aus den mit Bortrifluorid gewonnenen Addukten lassen sich die Ester leicht regenerieren, mit Rhodanwasserstoffsäure noch schneller als mit der hierfür üblichen Salzsäure.

2.)Das Verfahren zur Trennung von Addukten nach Andreas ist an Fettsäuremethylestern der Kettenlänge C_{18} entwickelt worden und beruht auf der Chromatographie mit Kieselgel unter Verwendung verschieden stark eluierender Laufmittel. In dieser Arbeit sind die Untersuchungen auf die Homologen mit 10 bis 22 Kohlenstoffatomen ausgedehnt. Dabei zeigt sich, daß die Addukte mit abnehmender Länge der Kette fester von Gel gebunden werden; die zu den jeweiligen Kettenlängen passenden Laufmittel sind im Text genannt.

3.) Die Addukte der Diene können nach Andreas aus einer Kieselgelsäule durch Eluieren mit einem Gemisch aus n-Butanol und Acetessigester gewonnen werden, ohne daß Triaddukt in erheblicher Menge mitläuft; dieses folgt dann mit der Mischung Methanol/Essigsäure. Allerdings weist Andreas selbst auf die Mängel des Acetessigesters als Laufmittel hin, nämlich auf den hohen Siedepunkt und die chemische Reaktionsfähigkeit. In dieser Arbeit wird nun gezeigt, daß man selektive Laufmittel für Diaddukte auch mit Essigsäure bereiten kann, wenn man diese in kleiner Menge bestimmten anderen Lösungsmitteln zusetzt. Gute Trennungen von Di- und Triaddukten werden durch eine Vorbehandlung des auf der Säule befindlichen Gemisches mit Aether/Essigsäure und darauf folgendem Eluieren mit Essigester/Essigsäure erreicht.

4.) Die verbesserten Trennverfahren sind in dieser Arbeit schließlich auf Gemische natürlicher Fettsäuren angewandt. Aus den C_{18}-Fraktionen der Methylester von Leinoel-, Hanfoel- bzw. Rüboel-Fettsäuren lassen sich die gesättigten, einfach-, zweifach- und mehrfach-ungesättigten Komponenten ohne Schwierigkeiten isolieren. Ebenso bewährt sich die Methode für die C_{16}-Fraktion der Methylester aus Rüboel-Fettsäuren.

L I T E R A T U R

1) K. A. Hofmann u. J. Sand, Ber. dtsch. chem. Ges. 33, 1340, 2692 (1900) 34, 1385, 2906 (1901) 35, 3170 (1902) 36, 3699 (1903)

2) J. Sand, Liebigs Ann. Chem. 329, 135 (1903)

3) K. A. Hofmann u. E. Seiler, Ber. dtsch. chem. Ges. 39, 3187 (1906)

4) W. Manchot, Ber. dtsch. chem. Ges. 53 B, 984 (1920)

5) W. Manchot u. A. Klüg, Liebigs Ann. Chem. 420, 170 (1920)

6) L. Sandborn u. C. Marvel, J. Amer. chem. Soc. 48, 1409 (1926)

7) E. Griffith u. C. Marvel, J. Amer. chem. Soc. 53, 789 (1931)

8) G. F. Wright, J. Amer. chm. Soc. 57, 1993 (1935)

9) W. H. Brown u. G. F. Wright, J. Amer. chem. Soc. 62, 1991 (1940)

10) G. F. Wright, J. Amer. chem. Soc. 69, 697 (1947)

11) G. Spengler, Brennstoff-Chem. 37, 47 (1956)

12) G. Spengler, Brennstoff-Chem. 40, 22 (1959)

13) I. F. Jutzenko, Nachr. Akad. Wiss. UdSSR 1956, 181

14) F. Withmore, J. Amer. chem. Soc. 68, 1083 (1946)

15) F. Cotton u. J. Leto, J. Amer. chem. Soc. 80, 4823 (1958)

16) E. Rochow, D. Hurd u. R. Lewis; The Chemistry of Organometallic Compounds, New York 1957

17) A. Brook u. G. F. Wright, Canad. J. Res. Sect. B, 28, 623 (1950)

18) A. M. Birks u. G. F. Wright, J. Amer. chem. Soc. 62, 2412 (1940)

19) H. Andreas, Dissertation Hamburg 1959

20) B. Budesinsky, Collect. czechoslov. chem. Commun. 22, 1147 (1957)

21) S. H. Bertram, Recueil Trav. chim. Pays-Bas. 46, 397 (1927)
22) W. Richau, Dissertation Hamburg 1953
23) Y. Inouye, M. Noda u. O. Hirayama, J. Amer. Oil Chemists' Soc. 32, 132 (1955)
24) K. Schilling, Fette u. Seifen 61, 765 (1959)
25) H. Andreas, Diplomarbeit Hamburg 1957
26) H. P. Kaufmann, Ber. dtsch. chem. Ges. 70, 2554 (1937)
27) H. Goldschmidt u. V. Scholz, Ber. dtsch. chem. Ges. 40, 624 (1907)
28) A. Müller, Z. anorg. allg. Chem. 217, 121 (1934)
29) W. Laubengayer, J. Amer. chem. Soc. 65, 884 (1956)

Lebenslauf

Am 27.5.1930 wurde ich als Sohn des Gutsbesitzers Ernst Morgenstern und seiner Ehefrau Frieda, geb. Uhle, in Rausdorf/Thüringen geboren. Die Volksschule besuchte ich in Struppen (bei Pirna) und Pirna/Sa., wo mein Vater seit 1935 als aktiver Offizier in Garnison stand. Den Besuch der Oberschule in Pirna schloß ich im Juli 1948 mit dem Reifezeugnis ab. Da ich in der sowjetischen Zone nicht mit der Zulassung zum Studium rechnen konnte, folgte ich meinen Eltern im August 1948 nach Hamburg und begann bei der Deutschen Vacuum Oel A.G. (heute Mobil Oil A.G.) eine Chemielaborantenlehre, die ich nach 2 Jahren mit einer Prüfung vor der Handelskammer Hamburg abschloß. Nachdem ich bei der gleichen Firma ein Jahr als Laborant beschäftigt gewesen war, begann ich im Wintersemester 1951/52 mit dem Chemistudium an der Universität Hamburg. Im Januar 1956 bestand ich die Diplom-Chemiker-Vorprüfung und im Juli 1959 die Diplom-Chemiker-Hauptprüfung in Hamburg mit "gut". Die Diplomarbeit hatte das Thema: "Hochwirksame Destilliersäulen für niedrige Drucke" und wurde, wie auch die Dissertation, in der Technischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg unter der Leitung von Prof. Dr. Ernst Jantzen ausgeführt.

Karl Morgenstern

Druck: Photo Copie GmbH Hamburg 1